

FORSCHUNGEN
AUF DEM
GEBIET DER PFLANZENKRANKHEITEN

Herausgegeben von

Prof. Dr. Shigeyasu Akai
Universität zu Kyoto

Heft V, Nr. 3

Kyoto, Japan

1955

Inhaltsübersicht

1. AKAI, Shigeyasu and Akinori UEYAMA: On the catalase activity of diseased leaves of rice plants infected by *Cochliobolus miyabeanus* 87
2. AKAI, Shigeyasu and Hiroyasu TANAKA: Change of the respiration and carbon-assimilation in leaves of rice plants infected by *Cochliobolus miyabeanus* 95
3. AKAI, Shigeyasu, Hiroshi YASUMORI, Hatiro OKU, and Takeki TABUCHI: On the influence of 2-methyl-1, 4-naphthoquinone (Vitamin K₃) upon the outbreak of *Helminthosporium* blight of rice plants (in Japanese) 105
4. NAITO, Nakato and Hiroshi KUNIKATA: The specific growth phase in *Gloeosporium Olivarum* on agar media containing 2, 4-D (in Japanese) 113
5. TAKAI, Shozo: Physiological studies on *Phellinus pomaceus* (PERS.) QUÉL. causing the white rot of stems of peach (in Japanese) 119

目 次

1. 胡麻葉枯病菌の侵害をうけた水稻罹病葉の catalase の活性（英文）
京都大学農学部 赤井重恭・上山昭則 87
2. 胡麻葉枯病菌の侵害をうけた水稻葉の呼吸及び炭酸同化作用の変化（英文）
京都大学農学部 赤井重恭・田中寛康 95
3. 2-methyl-1, 4-naphthoquinone (Vitamin K₃) が水稻胡麻葉枯病の発生に
及ぼす影響に就いて
京都大学農学部 赤井重恭・安盛博
三共株式会社 奥八郎・新野高等学校 田淵武樹 105
4. 2, 4-D 添加寒天培地に於けるオリーヴ炭疽病菌生育相の特殊性
香川農科大学 内藤中人・国方弘 113
5. 桃生樹の材質白色朽を基因するサクラサルノコシカケ *Phellinus pomaceus*
(PERS.) QUÉL. に関する生理学的研究
林業試験場 高井省三 119

On the catalase activity of diseased leaves of rice plants* infected by *Cochliobolus miyabeanus*.

Shigeyasu AKAI and Akinori UEYAMA

1. Introduction

In spite of their wide range of investigations relating to the diseases of rice plants, little is known of the physiological changes in diseased plants invaded by their causal fungi, in so far as we are aware. Generally, enzymes of plant cells may be particularly concerned with their physiological reaction, and now the vital process in living cells has been actively discussed from the enzymatic stand-point.

In the course of the disease development, the enzymic disorder in host plant cells will be necessarily raised. This reaction, however, in the present step of plant pathology, is entirely unknown. As the first step of clarifying the enzymic relation in diseased cells, an attempt was made in searching the change of enzyme activity in the expressed sap of rice plant cells raised by the incidence of *Helminthosporium* disease. At first catalase was selected. Recently GOTO (3, 4) studied the effect of the culture filtrate of *Cochliobolus miyabeanus* and *Piricularia oryzae* upon the catalase activity of Chinese cabbage. The former's effect was more intensive than the latter.

2. Materials and method

In the present investigation, varieties of rice plants, Kameji (resistant), Magatama (susceptible), and Kyoto Asahi (susceptible) were used. They were raised in earthen pots or in an about 3.3 m² concrete frame.

About 20 grames of leaves (in the case of seedlings 10 gr) were collected at 9 a.m. in a fine day from three to ten plants. After cutting off one third from both ends of leaves, central parts were used, cutting them into pieces of about 0.5 cm in length. 3 grams taken out of them were put into ten ml of 0.2 mol Sörensen phosphate buffer (pH 6.98) in mortal. After crushing them well, distilled water was added to make 100 ml. The suspension of crushed leaves was left thirty minutes at the room temperature, in order to extract enzyme, and then expressed. Thus, the crude enzyme solution was obtained. The activity of the enzyme was measured in accordance with OKUDA and KATAI's procedure (11).

And from the following equation the velocity constant (k) was calculated.

$$k = \frac{1}{t} \log \frac{a}{a-x}$$

where

a : initial concentration of the substratum (H_2O_2).

x : the amount of substratum which has already been transformed in time t.

* Studies on *Helminthosporium* blight of rice plants. X.

Contributions from the Laboratory of Plant Pathology, Kyoto University, No. 46.

The present study has been made in part by the aid granted for scientific research by the Ministry of Education. We wish to express our acknowledgement.

3. Experimental results and discussion

(1). Change in catalase activity in leaves of rice plants, when they were invaded by *Cochliobolus miyabeanus*.

Kyoto Asahi was used in this experiment. Seeds were sown in the middle of May. On 15th June, every twenty seedlings were transplanted into 2×10^{-5} Wagner's pots. For the inoculation test of the causal fungus, the isolate No. 13 was used. After culturing two weeks on malt-decoction agar at 28°C , the conidia of the causal fungus were inoculated on leaves with atomizer. Throughout the experiments, all plants used were kept in a moist chamber. 24 hours after the inoculation, doors of the incubator were opened four hours from 9 a. m. to 1 p. m. every day. The temperature of the green house was in the range of $20^{\circ}\text{--}35^{\circ}\text{C}$.

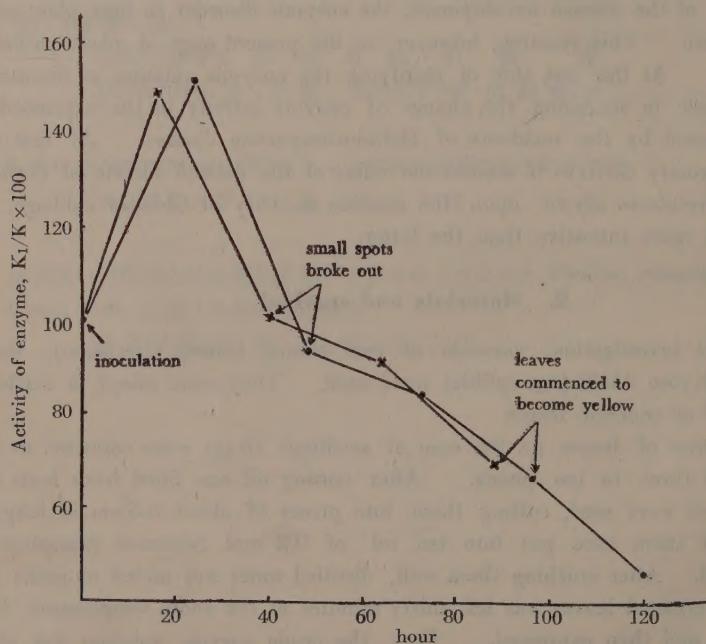


Fig. 1. Change in relative value of catalase activity in leaves of rice plants attacked by *Cochliobolus miyabeanus*

—●— first trial

—×— second trial

K and K_1 are the velocity constant, $(k) \times 10^4$, of normal and diseased leaves respectively.

As the curves in Fig. 1 indicate, the relative value of catalase activity, $(K_1/K) \times 100$, increased enormously within 24 hours after the inoculation and then it fell down. When the activity of the enzyme in both healthy and infected leaves showed almost similar value, at this time small necrotic lesions of the present disease broke out. Such a reaction in diseased cells is often reported. YARWOOD (13) pointed out the similar promoting reaction in respiration of excised clover leaflets being exposed to the attack of mildew and rust.

The activity of catalase in leaves changed markedly with the growth period of rice plants. It showed higher value in August (the second trial) than in July (the 1st trial)

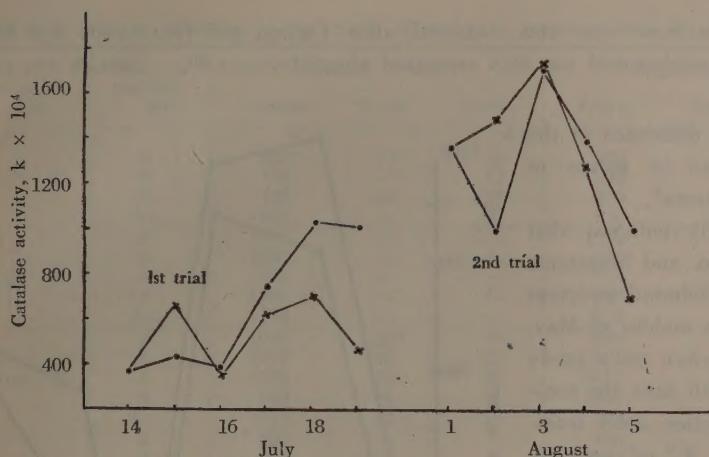


Fig. 2. Catalase activity in healthy and diseased leaves of rice plants

—●— sound leaves
—×— diseased leaves

(Fig. 2). This will be discussed later again. At the same time the inoculation experiment was also performed. The number of spots of the existing disease revealed on these leaves is as follows (Table 1).

Table 1. Number of spots of *Helminthosporium* blight revealed on leaves of rice plants (Kyoto Asahi) due to the inoculation of the causal fungus.

Plot	First trial		Second trial	
	Total number of spots measured	Number of spots per 100 cm length of leaf	Total number of spots measured	Number of spots per 100 cm length of leaf
Control	0	0	0	0
Inoculated	995	24.0	556	20.1

Table 2. Glutathione in the infected leaves of rice plants due to the attack of *Cochliobolus miyabeanus*

Replication	Date in measurement	Days after the inoculation	Condition of leaves	GSH * mg%	GS-SG ** mg%	Total glutathione mg%	*** Ascorbic acid mg%
1st trial	July 12	0	Healthy Ratio	20.3 16	105.4 84	125.7 100	15.3
	July 19	6	Healthy Ratio	21.9 17	103.7 83	125.6 100	24.1
			Diseased Ratio	11.3 10	107.2 90	118.5 100	19.8
2nd trial	Aug. 1	0	Healthy Ratio	19.3 15	106.2 85	125.5 100	20.3
	Aug. 5	5	Healthy Ratio	15.7 13	103.7 87	119.4 100	18.5
			Diseased Ratio	2.9 3	99.6 97	102.5 100	13.0

* Glutathione of reduction form, ** glutathione of oxidation form, *** measured as GSH

Glutathione in leaves was also measured after OKUDA and OGAWA (10) and OGAWA's procedure (9). Ascorbic acid was also measured after MITSUDA (8). Results are indicated in Table 2.

(2). Varietal difference in the activity of catalase in leaves of Kameji and Magatama*.

It is generally believed that Kameji is resistant and Magatama susceptible to *Helminthosporium* blight (1). In the middle of May, 1951, seeds were sown on a sandy seed bed. On 15th June the seedlings of both varieties were transplanted in about 3.3 m^2 concrete frame. As a basal fertilizer, ammonium sulphate 1.3 gr, potassium sulphate 0.5 gr, and superphosphate of lime 1.4 gr were given per plant. At the end of July same amount of fertilizers was also given. Throughout the investigation, the plants were always irrigated. The results are shown in Table 3 and Figure 3.

The results of the above experiments show that throughout the growth period of rice plants, the catalase activity in Kameji was always intensive compared with that of Magatama. It showed a considerable diversity in the activity with the growth period showing peaks of the activity curve in July and September. We did not compare the activity of this enzyme in the young and mature leaves in particular. Judging from the activity curves in Fig. 3, however, it seems to be high in leaves in maturity. KNOTT (7) found that the youngest and oldest leaves of spinach and celery were usually low in catalase activity as compared with those of intermediate age. POPE (12) also investigated the catalase activity in the leaves of growing barley. He found that catalase activity was low in young leaves and increased to a maximum at about the time of leaf maturity.

In both varieties used, catalase activity in leaves is always higher than that of stems and roots. They follow thus in decreasing order: leaves > stems > roots. This may also suggest that this enzyme has a connection with photosynthesis.

(3). Effect of mercury chloride and copper sulphate upon the catalase activity of rice plants.

Spraying is one of the most necessary operations in the disease control. Most spraying materials, however, are toxic to plants as well as to parasites against which they

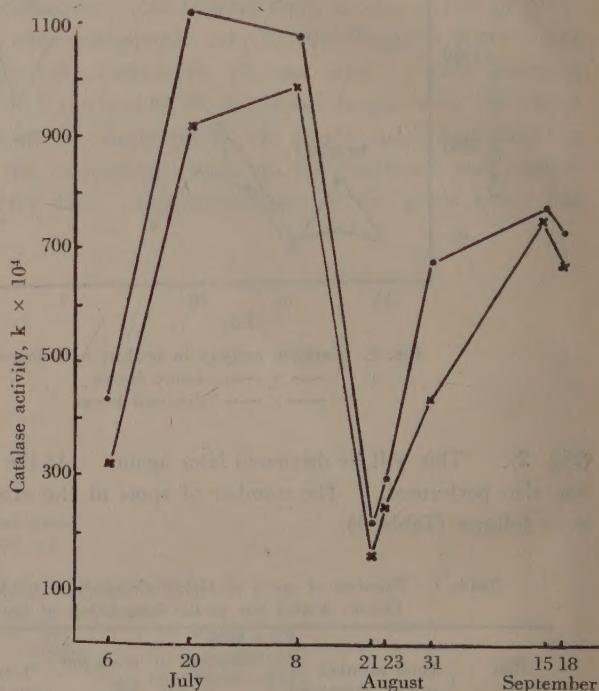


Fig. 3. Diversification of catalase activity in leaves of Kameji and Magatama with their growth period
—●— Kameji, —×— Magatama

* We are indebted to Mr. Yokogi, Shimane Pref. Agr. Exp. Sta. for obtaining seeds of the varieties used.

Table 3. Varietal difference in the activity of catalase in leaves, stems and roots of rice plants

Date of measurement	Time in reaction min.	Kameji variety			Magatama variety		
		Leaves	Stems	Roots	Leaves	Stems	Roots
July 6	3	423	—	42	390	—	55
	6	445	—	37	293	—	45
	9	426	—	47	270	—	62
	Av.	431	—	42	318	—	54
	*	*	*	*	*	*	*
July 20	3	1372	—	—	1224	—	—
	6	1280	—	—	906	—	—
	9	849	—	—	776	—	—
	12	1032	—	—	757	—	—
	Av.	1133	—	—	916	—	—
Aug. 8	2	1020	64*	0	836	0*	0
	4	1217	93	32	994	63	5
	6	1165	82	35	1017	90	12
	8	880	94	41	1107	71	27
	Av.	1071	83	27	989	56	11
Aug. 21	2	207	—	—	126	—	—
	4	224	—	—	93	—	—
	6	227	—	—	211	—	—
	8	186	—	—	170	—	—
	Av.	211	—	—	150	—	—
Aug. 23	2	377	64	—	322	85	—
	4	317	21	—	236	73	—
	6	248	113	—	211	57	—
	8	255	90	—	212	47	—
	Av.	299	72	—	245	66	—
Aug. 31	2	651	—	—	502	—	—
	4	741	—	—	404	—	—
	6	663	—	—	421	—	—
	8	643	—	—	392	—	—
	Av.	674	—	—	430	—	—
Sept. 15	2	1067	90	88	1054	67	84
	4	760	50	54	716	35	48
	6	616	67	63	601	50	56
	8	632	85	52	624	45	50
	Av.	769	73	64	749	49	60
Sept. 18	2	905	—	—	760	—	—
	4	672	—	—	689	—	—
	6	667	—	—	615	—	—
	8	638	—	—	625	—	—
	Av.	721	—	—	672	—	—

* Velocity constant ($k \times 10^4$)

are employed. They sometimes give rise to a spray injury upon operating plants. Many investigators have performed the tests on spray injury. They pointed out the symptoms of spray injury and some showed the effect of fungicides on the metabolism of host plants. YARWOOD (13) examined the effect of dusting with sulphur on the respiration of healthy and mildewed clover leaves. Sulphur dusting accelerated the respiration of mildewed leaves. CHRISTOPHER (2) pointed out the effect of sulphur spray on the CO_2 assimilation of apple leaves. It resulted in a reduction of the CO_2 assimilation, especially in the afternoon. Within the limit of our concern, evidences in which the enzymic relation in leaves injured by spraying was discussed in detail, are not yet found in abundance. From these aspects, a preliminary test on the effect of mercury chloride and copper sulphate upon the activity of catalase in leaves of rice plants was performed. Two ml of crude enzyme and 10 ml of distilled water were added to 3 ml of one-fifteenth mol phosphate buffer. To this solution, 5 ml of a given concentration of mercury chloride* or copper sulphate* solution and 10 ml of hydrogen peroxide were added. Thus the activity of the enzyme

* Mercury chloride was made by Merck Chemical Co., copper sulphate, Takeda Chemical Co.

was determined. The inhibition degree (H) was calculated as follows:

$$H = (K - K_1)/K \times 100 \%$$

where K : catalase activity in check (no addition of fungicide)
(velocity constant (k) $\times 10^4$)

K_1 : catalase activity in the plots where fungicide was added.
(velocity constant (k_1) $\times 10^4$)

The results are presented in the following table.

An inhibition in the activity of catalase offered by mercury chloride was more severe than that offered by copper sulphate. The former showed the almost complete inhibition of the activity in the concentration of 10^{-3} mol solution. Copper sulphate, however, expressed only fifty per cent inhibition of the activity in the same concentration (Table 4).

Table 4. Inhibition degree of catalase activity in rice plant leaves by mercury chloride and copper sulphate solutions

Fungicides	Replication	Concentration of fungicides mol				
		0	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}
$HgCl_2$	I	0	*	39	*	86
	II	0		3	54	95
	III	0		2	24	99
$CuSO_4$	I	0		-17	4	33
	II	0		20	28	53
	III	0		0	4	42

* Average of four measurements in eight minutes.

As in Table 4 indicated, the inhibition of the activity offered by copper sulphate showed a considerable diversity in the three replications. The first replication of copper sulphate plot showed a rather stimulatory effect on the activity, when a small amount of the chemical was added (10^{-6} mol solution). This diversity may be in part due to the different concentration of crude enzyme solution.

(4). Catalase activity in rice plants on which sodium silicate was supplied.

Recently ASADA and AKAI** investigated the effect of sodium silicate supply upon the susceptibility to *Helminthosporium* blight of the rice plant using Kameji and Magatama varieties. In this case, Magatama showed a marked reduction in susceptibility with a grading supply of sodium silicate. In Kameji, however, no definite effect on the susceptibility was found, even when silica was given.

ISHIZUKA and HAYAKAWA reported that silicate supply in rice plants promoted the absorption of magnesium and that the silicate and magnesium supply resulted greatly in a decrease of the susceptibility in rice plants to blast disease. It is believed that magnesium is the nucleus of chlorophyll, and that catalase has some relation to the photosynthesis. Therefore, it is suggested that the silicate supply may give some influence upon the activity of catalase. In the present experiment the effect of silicate supply on the activity of the enzyme was observed in both the varieties, Kameji and Magatama. The samples were

** Ann. phytopath. Soc. Japan, 18 (3-4): 109-112, 1954.

collected from the plants raised on sandy soil in 2×10^{-5} Wagner's pots by ASADA and AKAI.

Table 5. Catalase activity of leaves of the varieties on which sodium silicate was given

Variety	Replication	Amount (ml) of 0.1 mol solution of sodium silicate per pot							
		0		10		50		100	
		K*	Ratio	K*	Ratio	K*	Ratio	K*	Ratio
Kameji	I	119	100	212	178	347	292	497	418
	II	275	100	294	107	363	132	342	124
	III	300	100	223	74	404	135	362	121
Magatama	I	137	100	99	72	257	188	198	145
	II	257	100	138	54	272	106	405	158
	III	180	100	151	84	221	123	350	194

* Velocity constant (k) $\times 10^4$

Average of four measurements in eight minutes.

From the above data, it is evident that the catalase activity of leaves in both varieties was accelerated by the supply of sodium silicate. It showed, however, a decline of the activity, as shown in Table 5, especially in Magatama, when a small amount of silicate was given. ASADA and AKAI** reported that the silicate supply in Magatama resulted in a marked reduction of susceptibility, depositing abundant silica in leaves. They also reported that Kameji, on the contrary, showed no definite reaction in the susceptibility as well as the silicification of leaves. Judging from these results, we assumed that there exists no correlation between the susceptibility of plants to *Helminthosporium* blight and the activity of catalase. It is evident, however, that the absorption of silicate in plant body resulted in an activation of catalase. The mechanism of this activation is a matter of further investigation.

4. Conclusion and summary

In the present paper we described the results of experiments on the change of catalase activity in rice plant leaves infected by *Cochliobolus miyabeanus*.

The relative value of catalase increased enormously within twenty-four hours after the inoculation of the causal fungus. Then, it decreased and when the activity of the enzyme in healthy and infected leaves attained to the almost similar value, small necrotic lesions of the disease broke out.

The activity of the enzyme of leaves changed markedly with the growth period of rice plants. The peaks of the activity curves were observed in the vigorous branching and earing stages.

In the diseased leaves, percentage of oxidation form of glutathione more or less increased.

** Ann. phytopath. Soc. Japan, 18 (3-4): 109-112, 1954.

The activity of catalase in leaves of the Kameji, a resistant variety to the *Helminthosporium* blight, was more intensive than that in leaves of the susceptible variety, Magatama.

The activity of catalase in leaves was always high as compared with that in stems and roots.

Mercury chloride inhibited completely the activity of catalase in the concentration of 10^{-3} mol. In the same concentration copper sulphate inhibited only a half of mercury chloride.

Natrium silicate supply on rice plants resulted in an increase in the activity of catalase.

Literature cited

1. AKAI, S. and Y. ASADA: *Forsch. Gebiet Pflanzenkr.*, Kyoto, 5 (1): 1-14, 1954. *J. N. f. 104*
2. CHRISTOPHER, E. P.: *Proc. Amer. Soc. Hort. Sci.*, 1935, 33: 149-151, 1936.
3. GOTO, I.: *Journ. Yamagata Agr. and Forest. Soc.* 2: 49-51, 1952.
4. ———: *Ann. Rept. North Japanese Research Asso. Plant Disease and Insect Pests*, 3: 41-42, 1952.
5. HINO, S.: *Advance in Enzymochemistry*, (Tokyo), 1: 92-150, 1949, (in Japanese).
6. ISHIZUKA, Y. and Y. HAYAKAWA: *Journ. Sci. Soil and Manure*, Japan, 21: 253-260, 1951.
7. KNOTT, J. E.: *N. Y. Cornell Agr. Expt. Sta. Mem.* 106: 1-63, 1927.
8. MITSUDA, H.: *Mem. College Agr., Kyoto Univ.*, 57: 1-7, 1950.
9. OGAWA, M.: *Journ. Agr. Chem. Soc.*, Japan, 14: 65-72, 1938.
10. OKUDA, Y. and OGAWA, M.: *Ibid.*, 9: 655-664, 1933.
11. ——— and KATAI, K.: *Ibid.*, 14: 1264-1270, 1938.
12. POPE, Merritt N.: *Journ. Agr. Res.*, 46: 35-40, 1933.
13. YARWOOD, C. E.: *Ibid.*, 49: 549-558, 1934.

Change of the respiration and carbon-assimilation in leaves* of rice plants infected by *Cochliobolus miyabeanus*.

Shigeyasu AKAI and Hiroyasu TANAKA

1. Introduction

The *Helminthosporium* leaf spot, one of the most important diseases of rice plants, is a very widely distributed disease in Japan(9). The present disease usually attacks leaves of rice plants, particularly in the later stage of their growth period, and also attacks grains and spikelets, especially after heavy storm, discoloring them in brown.

It is said that the resistance in plant cells to the pathogenic fungus has a large concern with the metabolic equilibrium in plants themselves. Evidences, however, in which the metabolism of diseased plants is dealt with, are not yet in abundance. SEMPPIO(13) discussed the change of carbon assimilation, glycolysis, and respiration in wheat plants which were attacked by powdery mildew. YARWOOD(15), PRATT(12) and ALLEN and GODDARD(3,4) also studied the respiration change in wheat affected by powdery mildew.

The present study reported here was made for the purpose of securing the detailed information concerning the changes of the respiration and carbon-assimilation in excised leaves of rice plants which were affected by the causal fungus of *Helminthosporium* leaf spot (Gomahagare-disease).

2. Materials and method

The isolate, No. 13 of the causal fungus was used. The inoculation was performed by spraying conidia-suspension, prepared from fifteen days culture on potato-decoction sucrose (1.5%) agar media, on leaves of the susceptible variety, Magatama. After the brine assortment, seeds were disinfected twelve hours, soaking them in 1:1000 Uspulun solution, and then they were seeded in seed-box in the green house.

When they grew about twenty cm long, they were transplanted into Wagner's pots. Thereafter, they were placed on out-door bench. As a basic fertilizer, manure was used. Afterwards, 1.2 gr of ammonium sulphate, 1.5 gr of potassium perphosphate and 0.5 gr of potassium sulphate were given per 1:50,000 Wagner's pot and 2.5 times of them per 1:20,000 pot.**

According to DUSTER(5) and SUZUKI(14), the carbon-assimilating activity of rice plants increased at the peak of stooling period, and decreased at the pregnant stage of ear. An increase was also found in the earing stage, and then it declined. This may be the normal rhythm of the assimilation in rice plants. In accordance with DUSTER's experiments(5), the activity in carbon-assimilation is most intensive at the earing stage throughout the growth period. The amount of carbohydrates which were assimilated in leaves is also largest in that period. Judging from their experiments, we selected the earing stage of plant, considering it the most suitable stage to investigate.

* Studies on the pathological physiology of plants. I.

Contributions from the Laboratory of Phytopathology, College of Agriculture, Kyoto University, No. 83.

** Fertilizers were given on 10th July and 10th August, 1953.

The experiments concerning the respiration were performed in a dark room by use of the manometric technique of Warburg, under 30°C, with ninety-eight vibration per minute. In the case of carbon-assimilation, however, 100 W Maz'da lamp was placed about 10 cm above the water level of the manometer. Immediately before the measurement about 20 cm was cut from the tip of second and third leaves (numbering from the upper level). In the present investigation Menzel's carbonate buffer solution was used holding it in a vessel of the manometer as a medium. Usually, for measurement of the respiration of pieces of animal tissues or microorganisms, Ringel solution or Sörensen's phosphate buffer may be used. The experiments on the carbon-assimilation in *Chlorella*, however, are often performed using Menzel's buffer solution(6). In order to measure the assimilating activity of carbon it is necessary to retain the constant concentration of CO₂ in the medium. To this purpose carbonate buffer is suitable. This solution, however, designates the strong alkaline reaction of pH 9.2. Monocellular algae such as *Chlorella* are known to resist in such a strong alkaline medium for several days(6). It is very doubtful, however, that the leaves of rice can resist harmlessly in such a solution, because they prefer acid reaction. In accordance, we made a preliminary observation to test the respiration using aforementioned two buffers.

Table 1. Comparison of QO₂ of rice leaves which were floated on the buffer solution of Sörensen or Menzel in the vessels of manometer.

Sörensen phosphate buffer solution, pH 6.98	Menzel carbonate buffer solution pH 9.2
* 1.0143	1.0121

* Average of ten replications

There was no significant difference between the results obtained using the two buffer solutions respectively. Therefore, it is not too much to say that these buffer solutions have almost the same effects on the assimilation.

The measurements were performed during five hours from 10 to 15 o'clock. During this period the assimilation activity of carbon in out-door plants may be presumably most intensive throughout a day. At first carbon-assimilation was measured every ten minutes during thirty minutes, in order to prevent the interference to assimilation resulting from introducing leaves into a dark room to investigate. Next, the respiration was measured continuously for a half hour. In this case, the value obtained for assimilation (QCO'₂) does not reveal the true one. To obtain the true assimilation activity (QCO₂), the amount of respiration (QO₂) should be added to it. Therefore as follows :

$$QCO_2 = QCO'_2 + QO_2$$

3. Result of the experiments

(1). Change in the respiration of detached rice leaves infected by the causal fungus.

Using the method aforementioned, experiments were done. The conidia suspension prepared from test tube culture was sprayed on the potted rice plants.* Thus, the observation was continued about ten or thirteen days after the inoculation. The respiration intensity in the diseased leaves was always expressed as ratio to that of normal ones (Table 2, and Fig. 1).

* Seeds were sown on 26th, May, 1953. They were transplanted in 1:50,000 pots on 26th, June.

Table 2. Change in the oxygen uptake of the leaves of Magatama during ten or thirteen days, when they were infected. (Sept. 1-19, 1953)
(Average of four replications)

Leaf arrangement from upper level	Days after inoculation	Weather condition	Q _{O₂} in normal leaves	Q _{O₂} in diseased leaves	Number of spots in 10 cm ² of leaf area		Index** of spot-enlargement	Relative*** Q _{O₂} in diseased leaves
					* Large	Total		
Second	2	thin-cloudy	1.45	1.83	3.6	84.9	4.3	12.6
	4	clear	1.13	1.56	12.5	75.1	11.6	13.8
	6	cloudy	1.27	1.53	24.8	111.6	22.2	12.1
	8	clear	1.41	1.80	27.8	128.4	22.7	12.8
	10	clear	1.45	1.52	36.7	134.5	27.3	10.5
Third	2	thin-cloudy	1.36	1.65	5.9	90.5	6.5	12.1
	4	clear	1.36	1.76	17.0	116.6	14.6	12.9
	6	cloudy	1.27	2.34	23.0	72.5	31.7	18.4
	8	clear	1.58	2.02	15.3	75.9	20.1	12.8
	10	clear	1.56	1.76	16.1	72.3	22.3	11.3
	13	clear	1.37	1.72	18.4	65.8	28.0	12.6

* Large necrotic spots, diameter of which is more than 1.5 mm.

** Index of spot enlargement is designated after YOSHII⁽¹⁶⁾ as follows:

$$\frac{\text{number of large spots}}{\text{total number of spots}} \times 10$$

*** Each sample was collected at every measurement.

**** Calculated Q_{O₂} of normal leaves as 10.

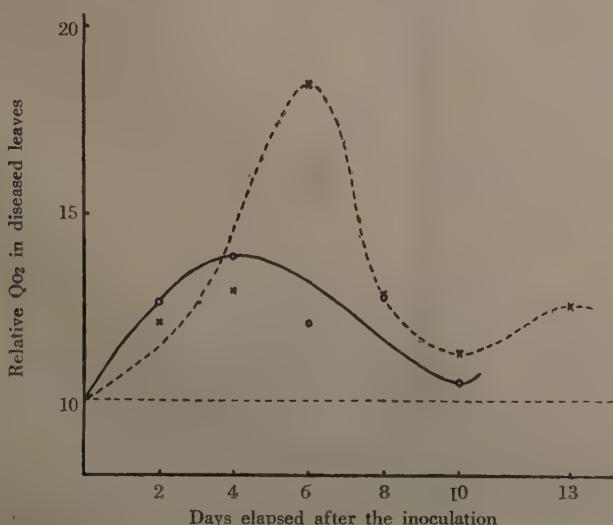


Fig. 1. Change in Q_{O₂} of diseased leaves of Magatama during thirteen days.

—○— second leaves

.... X third leaves

Even if the curves in Fig. 1 of the second and third leaves represented the considerable divergency, the inclination was almost similar. The respiration intensity increased due to the infection of the causal fungus, and up to four to six days after the inoculation the maximum incitement was obtained. Then, it presented a gradual fall.* The number of necrotic spots revealed on the leaves used, especially of large ones, more than 1.5 mm in diameter, increased gradually and the index of spot-enlarge** also rose with the time elapsed until it became almost constant. In other words, while the minute lesions develop to larger ones, the oxygen uptake was excited markedly and after the spot-enlargement reached to almost constant value, it decreased.

Recently we^(1,2) measured the catalase activity in the diseased leaves of rice plants due to the infection of *Cochliobolus miyabeanus*. The activity increased showing a peak within twenty-four hours after the inoculation, and then fell down. Generally, catalase is not regarded as an oxidizing enzyme. Its function is supposed to be the destruction of hydrogen peroxide as a by-product of metabolism. Regarding this point catalase may have some concern with the respiratory oxidation. Considering this, change of respiration within forty-two hours in leaves was observed (Table 3, and Fig. 2).

Table 3. Change of the oxygen uptake in leaves of rice plants^a within 42 hours, when they were affected by *Helminthosporiose*.
(Sept. 21-23, 1953, average of two replications)

Leaf arrangement from the upper level	Hours elapsed after the inoculation	Q _{O₂} in normal leaves	Q _{O₂} in diseased leaves	Relative ^b Q _{O₂} in diseased leaves	Note
Second	0	1.05	—	—	{ small spots developed
	6	1.12	1.01	9.0	
	12	1.14	1.41	12.4	
	18	0.97	1.62	16.7	
	24	0.86	1.36	15.8	
	36	1.13	1.53	13.5	
	42	0.78	1.05	12.1	
Third	0	1.02	—	—	{ small spots developed
	6	1.18	1.03	8.7	
	12	1.25	1.66	13.3	
	18	1.06	2.30	21.7	
	24	0.75	1.54	20.5	
	36	1.03	1.90	18.5	
	42	0.86	1.24	14.4	

^a Plants were held in a moist chamber during 42 hours.

^b Calculated Q_{O₂} of normal leaves as 10.

* In the present observation, we recognized the second peak on about the thirteenth day after the inoculation. However, this is not of certainty, because the number of spots revealed on the inoculated leaves used after thirteen or eighteen days was too small. Therefore, it is doubtful whether the increase of oxygen uptake is due to the effect of the infection only or not.

** This was calculated in accordance with YOSHII's conception⁽¹⁶⁾.

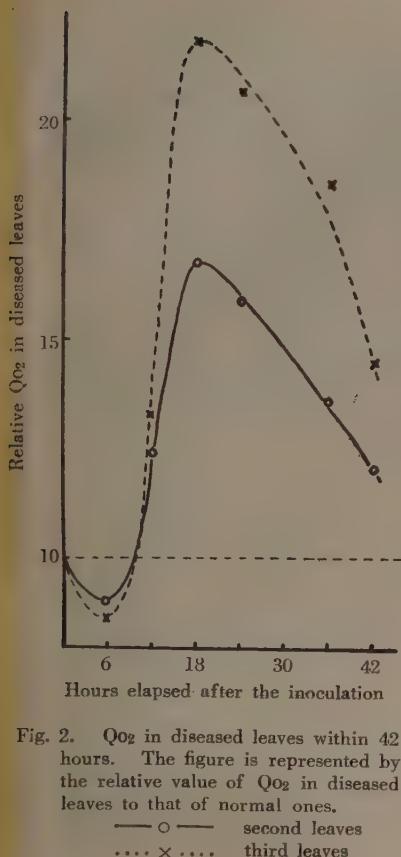


Fig. 2. QO₂ in diseased leaves within 42 hours. The figure is represented by the relative value of QO₂ in diseased leaves to that of normal ones.

—○— second leaves
....×.... third leaves

As shown in the curves of Fig. 2, a considerable resemblance was observed between the respiration and the catalase activity of leaves. The respiration was preferably checked at the primary stage within more than six hours. However, a sudden increase of the activity followed this. Thus, a peak was observed within about twenty-four hours, and then a gradual fall continued (Fig. 2). When the absorption of oxygen reached to the maximum, a number of small spots broke out on leaves. The time up to spot-breaking after the inoculation was somewhat different in the case of catalase.

(2). Change of carbon-assimilating power in diseased leaves.

(a). Measurement by the manometric technique. The experiments were done on the same samples used in Table 2.

The inclination of the carbon-assimilation in the second and third leaves has some similarities (Table 4 and Fig. 3). At first the activity was rather suppressed in the inoculated leaves. However, an increased absorption of carbon dioxide followed immediately within four to six days after the inoculation. Thus, the maximum came out, and gradually it fell down following a

In such a manner the suppression of the assimilation may become intensive gradually in the diseased leaves.

minimum on about the eighth to tenth day.

(b). Carbon-assimilation measurement by weighting carbohydrates which were assimilated in leaves from morning till evening. In this paragraph, amount of carbohydrates formed in rice leaves during ten hours from seven a. m. to five p. m., was actually measured (Table 5 and Fig. 4).

According to Duster(5) and Suzuki(14), the carbon-assimilation in rice leaves commences with the sun-shine in the morning reaching the maximum after about three hours. Thereafter it declines gradually showing almost constant value in the afternoon. However, it stops rapidly after ceasing of the sun-shine. Judging from these investigations (5, 14), we determined the time of experiment as about ten hours from seven a. m. to five p. m.

A stub of rice plants was divided into 2 parts, and the one was used in the morning and the other in the afternoon. The second and third leaves of them were collected. Immediately after cutting them into pieces, they were dried in a desiccator. After they showed the constant weight, they were put into a 150 ml flask, adding 50 ml distilled water and 5 ml of about 25 per cent HCl solution. After hydrolyzing them in boiling water for 2.5 hours, glucose in the solution was measured by Lehmann-Maquerne-Schoorl

method.

Table 4. CO_2 inhaled by leaves for the carbon-assimilation during ten or thirteen days.
(Sept. 1-9, 1953, average of four replications)

Leaf- arrangement	Days elapsed after the inoculation	Weather condition	QCO_2 in normal leaves	QCO_2 in diseased leaves	Relative QCO_2 ** in diseased leaves
Second	2	thin- cloudy	5.01	4.06	8.1
	4	clear	3.70	4.30	11.6
	6	cloudy	2.70	3.14	11.6
	8		3.36	2.98	8.9
	10	clear	3.35	3.02	9.0
Third	2	thin- cloudy	4.12	3.56	8.6
	4	clear	3.65	4.27	11.7
	6	cloudy	2.77	4.27	15.5
	8	clear	2.80	3.32	11.9
	10	clear	2.96	3.21	10.8
	13	clear	2.80	3.02	10.8

* From the upper level

** Calculated QCO_2 in normal leaves as 10.

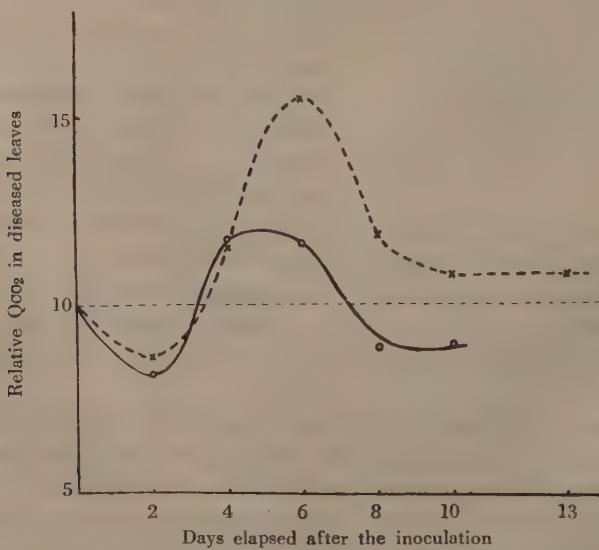


Fig. 3. Change in the carbon-assimilation in the second and third leaves of rice plants during 10 or 13 days after the inoculation.

—○— second leaves

....×.... third leaves

As it is clear from this result, the carbohydrate formation in diseased leaves was excited greatly within four days after the inoculation, even if it was checked rather slightly at the initial stage. Soon after, however, it decreased rapidly, and after six days it became

Table 5. Amount of carbohydrates which were assimilated in the tissues of leaves of Magatama from morning till evening. (Aug. 31-Sept. 8, 1953, average of three replications)

Days elapsed after inoculation	Weather condition	Carbohydrates mg containing in 100 gr dry weight of leaves		Relative value in diseased leaves **	Number of large spots in 10 square cm of leaf area	Index of spot- enlargement
		Normal	Diseased			
2	clear	5.330	5.202	9.8	0	0
4	cloudy	0.781	1.030	13.2	1.3	0.4
6	clear	3.124	1.075	3.4	2.5	0.7
8	clear	2.006	0.472	2.4	3.6	0.7

* Each sample was collected at every measurement.

** Calculated normal leaves as 10.

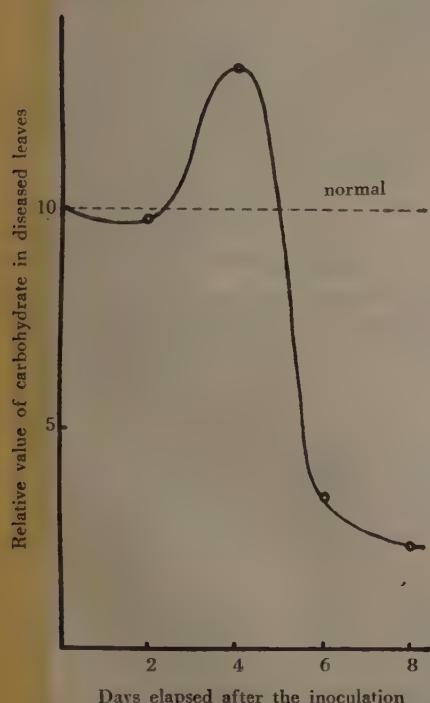


Fig. 4. Change in amount of carbohydrates formed in leaf tissues of rice (Magatama) during ten hours in a day due to the infection of the causal fungus.

tween the number of spots revealed and the respiration, i. e. the more the respiration will be excited in a certain rate in the initial stage.

(4). The relation of the disease severity to the yield of rice crop.

It is difficult to deal with the influence (to the yield) of the number of spots revealed on leaves. However, it is reasonable that the necrotic lesions may influence the metabolism

markedly smaller than that of normal ones. In this case, the data obtained do not designate the true assimilation activity. It represents only the value in appearance, such as QCO_2 obtained by the manometric technique. Consequently the true value should be added with the amount of carbohydrate consumed in the respiration.

(3). Relation between the respiration of leaves and the disease development.

In the present observation we could find no correlation between the respiration activity of leaves and the size of lesions, especially in the later stage. However, in the initial stage especially within eighteen to twenty-four hours, the rectilinear relation may be found between them. The relation is as follows (Table 6 and Fig. 5).

From the figures of Table 6, the regression coefficient was calculated between the number of spots and QO_2 . This was 0.39, and the regression equation is as follows:

$$y = 2.13 + 0.39(x - 2.85)$$

The correlation coefficient was 0.74. This was significant in 5 per cent level. Accordingly, while spots are still very small, there may be found a definite correlation be-

Table 6. The number of small spots revealed on leaves of Magatama and Qo₂ immediately after the appearance of lesions.

Sept. 21-22, 1953				Oct. 1-2, 1953			
Leaf arrangement	Time elapsed hrs.	Number of spots per 10 cm ² of leaf	Qo ₂	Leaf arrangement	Time elapsed hrs.	Number of spots per 10 cm ² of leaf	Qo ₂
2	18	64.3	1.46	2	18,30	82.0	2.15
"	"	120.7	1.76	"	"	120.7	2.95
"	24	35.6	1.11	"	"	136.9	2.44
"	"	89.4	1.60	"	"	172.5	3.19
3	18	108.2	2.06	"	20,00	99.6	2.25
"	"	216.1	2.54	"	"	102.7	2.65
"	24	56.5	1.41	"	"	151.4	2.93
"	"	128.3	1.67	"	"	169.4	2.79
				"	21,30	73.3	1.77
				"	"	85.9	1.90
				"	"	98.0	1.80
				"	"	98.8	2.16

such as photosynthesis. Hence, they ought to give a bad influence to the yield. We, therefore, observed the effect of the present disease spots revealed on boot leaves of rice plants on yield.

Table 7. The occurrence* of *Helminthosporium* leaf spot in boot leaves of potted Magatama and the yield of rice crop.

Relative concentration of conidia	Number of leaves measured	Average length of leaf cm	Number of spots per 100 cm of leaf		Total number of panicles	Yield gr	
			Large	Total		Total	Per panicle
0**	51	30.9	3.6	12.7	59	177.4	3.0
2	61	31.4	17.8	295.4	72	185.7	2.6
4	61	31.2	22.1	389.5	68	171.6	2.5
7	66	29.9	42.3	410.6	69	179.9	2.6
8	30	31.3	42.4	494.4	33	87.2	2.6

* Inoculated on 1st. Sept. 1953, and cropped on 27th Oct.

** No inoculation.

Calculated from the above figures, the regression coefficient between the number of spots per cm and yield of rice crop, was -0.7. The regression equation is:

$$Y = 2.68 - 0.7 (x - 2.88)$$

and the correlation coefficient between them was -0.52. Consequently, the significance was detected in 5 per cent level between the control and inoculated plots. However, as the regression coefficient may show, within the limit of the present experiment, the

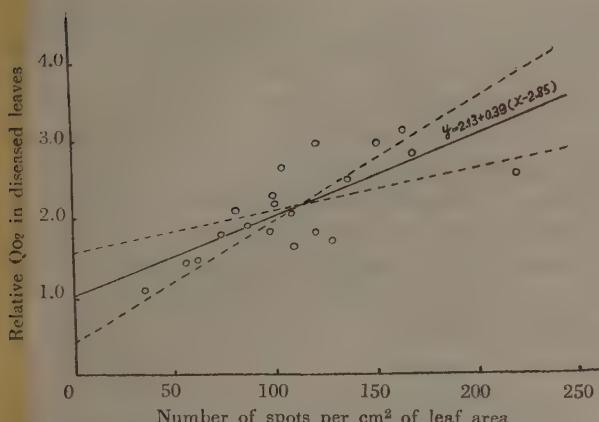


Fig. 5. Relation of respiration of leaves to the number of spots of *Helminthosporiose* during the initial stage of the infection.

functional balance. He supposed that, considering the ratio of the strength between photosynthesis (P) and respiration (R) in normal plants arbitrarily as equivalent 1:1, if P-R ratio was over 1, plants may be in resistant state, i. e., synthetic process is more prevalent. However, if P-R ratio is below 1, it is in a susceptible condition, increasing the breakdown process.

In the present investigation we also discussed the P-R ratio, the metabolic equilibrium of variety Magatama (Table 8).

Throughout the experiment, P-R ratio is below 1. This may show that the breakdown process of this plant is in prevalence. The especially small value of P-R ratio in the initial stage of the infection may indicate the prevalence of the consumption.

Table 8. P-R ratio of rice plant, Magatama which was attacked by *Cochliobolus miyabeanus*.

Time elapsed after the inoculation (days)	P-R ratio	
	Second leaves	Third leaves
2	0.65	0.71
4	0.84	0.90
6	0.97	0.84
8	0.69	0.93
10	0.86	0.96
13	0.87	0.86

It is said that the physiology in the second and third leaves may be somewhat different(11). And in the present investigation, differences in the metabolic reaction between them may be presented (Fig. 1, 2, 3). Thus, the P-R ratio of the third leaves seems to be more or less higher than the second leaves.

According to Hemmi(10) and Goto(7), the causal fungus of the present disease completes the invasion into the host within about eight to ten hours after the inoculation. In consequence, it is likely that the rapid increase of the respiration intensity may reveal im-

necrotic lesion in such a number of spots may not give a marked effect to the yield of crop.

4. Discussion

In general, the resistance exerted by plants against pathogenic fungi is linked more or less to the metabolic equilibrium in plants. SEMPIO(13) suggested the metabolic resistance in wheat plant to powdery mildew. He accentuated the ratio of intensity between the principal functions: the func-

mediately after the completion of the invasion. In the previous investigation^(1,2), we measured the catalase activity in leaves of rice plants, when they were infected by the present fungus. In the range of forty-eight hours after the inoculation, catalase and respiration in the inoculated leaves presented a very similar inclination of changes indicating a maximum incitement of the response within eighteen to twenty-four hours. At this stage or more or less later the minute necrotic lesions appear, and between the respiration and the number of spots a constant relation may be found. However, after the disease developed accompanying the enlargement of spot area, this relation was not detected. According to Goto⁽⁸⁾, the cultural filtrate of the present fungus interferes with the activity of catalase in expressed sap of Chinese-cabbage. In our experiment^(1,2), the catalase activity was rather checked after showing the maximum incitement.

5. Résumé

In the present paper, we described the results dealing with the respiration and carbon-assimilation in affected leaves of rice plants with *Cochliobolus miyabeanus*.

In the course of thirteen days, both the respiration (Q_{O_2}) and carbon-assimilation (Q_{CO_2}) were increased in the inoculated leaves due to the infection. This, however, generally decreased after showing a peak on fourth to sixth day after the inoculation. The carbon-assimilation was rather checked in the initial stage.

The P-R ratio in the inoculated leaves is slightly below 1 throughout the present investigation. This may explain the prevalence in consumption in the plant tissues, and may show that the variety Magatama is in susceptible condition. The P-R ratio of this plant showed comparatively smaller value in the initial stage of the infection.

In the initial stage of the infection, the constant relation may be found between the number of spots in leaves inoculated and their respiration. In this stage, necrotic spots were still very small like the tip of a needle.

Literature cited

1. AKAI, S. and UEYAMA, A.: Medicine and Biology, 26 (2): 70-72, 1953, (in Japanese).
2. _____ and _____: Forsch. Gebiet Pflanzenkrankh., Kyoto, 5 (3): 87-94, 1955.
3. ALLEN, P. J. and GODDARD, D. R.: Amer. Jour. Bot., 25: 613-621, 1938.
4. _____ and _____: Science (n. s.), 88: 192-193, 1938.
5. DUSTER, R. H. and CHINOY, J. J.: Ind. Jour. Agr. Sci., 2: 431-454, 1932.
6. FUJITA, A.: Manometer and its application, Tokyo, 1949, (in Japanese).
7. GOTO, I.: Bull. Inst. Agr. Res., Tohoku Univ., 4(4): 271-278, 1952, (in Japanese).
8. _____: Jour. Yamagata Agr. Forestry Soc., 2: 49-51, 1952.
9. HEMMI, T. and AKAI, S.: Collection of papers, in the College of Agriculture, Kyoto Univ., 2: 77-89, 1943, (in Japanese).
10. _____ and NOJIMA, T.: Forsch. Geb. Pflanzenkrankh., Kyoto, 1: 84-89, 1931, (in Japanese).
11. MITSUI, S.: Proc. Crop Sci. Japan, 12: 228-232, 1940, (in Japanese).
12. PRATT, R.: Science (n. s.), 88: 62-63, 1938.
13. SEMPIO, C.: Phytopath., 40: 799-819, 1950.
14. SUZUKI, N.: Seibutsu Kagaku, 5(1): 17-21, 1953, (in Japanese).
15. YARWOOD, C. E.: Jour. Agr. Res., 49: 549-558, 1934.
16. YOSHII, H.: Sci. Rep. Matsuyama Agr. Coll., 6: 23-60, 1951, (in Japanese).

2-methyl-1, 4-naphthoquinone (Vitamin K₃) が水稻 * 胡麻葉枯病の発生に及ぼす影響に就いて

赤井重恭・安盛 博・奥 八郎・田淵武樹

Shigeyasu AKAI, Hiroshi YASUMORI, Hatiro OKU, and Takeki TABUCHI :
On the influence of 2-methyl-1, 4-naphthoquinone (Vitamin K₃)
upon the outbreak of *Helminthosporium* blight of rice plants.

Vitamin K₃ (2-methyl-1, 4-naphthoquinone) の菌類に対する作用に就て田中(16)は Vitamin K₃ 及び K₅ が酵母並に黴に対して防腐剤的效果のあることを述べ、又阿部、増田(1)も同様な結果を報告している。富安・豊水・野中・塙本(18)等によれば Vitamin K は真性酵母並に *Aspergillus*, *Penicillium* 等に対して強い抗菌性を有するという。

Quinone 化合物を殺菌剤に応用しようという企はかなり以前から行われておる(4, 5, 8)。McNEW 及び BURCHFIELD(13), COLWELL 及び MoCALL(6,7), LEAO 及び FURTADO(11) 等は Vitamin K の抗菌機構に就いて論じているが、氏等の実験結果から推論すれば Vitamin K は菌類細胞中の SH 基と結合して、その活性度を低下せしめる為に抗菌性があらわれるものようである。

筆者等は京大農学部農薬化学研究室武居教授の御好意により、Vitamin K₃ に就いて実験を試みる機会を得たので、それが水稻胡麻葉枯病菌並に水稻の病害抵抗性に及ぼす影響に就いて実験を行つた。

本稿を草するに当り、武居教授に深謝の意を表する。

第 1 表 Vitamin K₃ 液中に於ける供試菌分生胞子の発芽試験
Germination of conidia of *Cochliobolus miyabeanus* in different concentration of Vitamin K₃ solution.

発芽時間 Hours incubated	濃 度 % Concentration	測定胞子数 Number of spores measured	発芽胞子数 Number of spores germinated	発芽率 Per cent germination	発芽抑制率 Per cent germination inhibition
4	5.000 × 10 ⁻³	1141	4	0.4	99.5
	2.500 × 10 ⁻³	1284	18	1.4	98.1
	1.250 × 10 ⁻³	1151	50	4.3	94.2
	0.625 × 10 ⁻³	932	817	87.7	-19.0
	Control	1130	833	73.7	0
24	5.000 × 10 ⁻³	1027	20	1.9	97.9
	2.500 × 10 ⁻³	1726	70	4.1	95.6
	1.250 × 10 ⁻³	1306	195	14.9	84.9
	0.625 × 10 ⁻³	1103	1033	93.7	-1.6
	Control	1164	1073	92.2	0

* 水稻胡麻葉枯病に関する研究、第 17 報、京都大学農学部植物病理学研究室業績、No. 54.

上表は3回実験結果の平均であるが、Vitamin K₃は約8万倍 ($1.25 \times 10^{-3} \%$) 以上の濃度に於て供試菌の胞子発芽を抑制し、それ以下の濃度になると、発芽抑制力が弱まつて、16万倍 ($0.625 \times 10^{-3} \%$) 液では対照区とほぼ同じ程度の発芽を示すようになる。

(2). Vitamin K₃の菌糸発育に及ぼす影響。供試薬剤は供試菌の分生胞子に対して、上述の如き発芽抑制を示したが、同様に供試菌の菌糸発育に対しても抑制作用

を示すものと考えて、次の実験を行つた。培養液にはCzapek液を使用し、内容300 ml の flask に下表記載の濃度に Vitamin K₃を加えた培養液 50 ml 宛を分注して殺菌し、その後供試菌を植付け、28°C 下に14日間培養した。培養後菌体を濾別し、よく蒸溜水で洗滌した後、80°C 下で恒量に至る迄乾燥して秤量した。結果は第2表の通りである。

第2表 稲胡麻葉枯病菌の菌糸発育に対する Vitamin K₃の影響 (3回実験結果平均)

Effect of Vitamin K₃ upon the mycelial growth of *Cochliobolus miyabeanus*.

Concentration of Vitamin K ₃ %					
0	0.33×10^{-3}	0.5×10^{-3}	0.67×10^{-3}	1.0×10^{-3}	2.5×10^{-3}
309.6 mg	334.6 mg	283.0 mg	232.3 mg	143.4 mg	0 mg

上表に於て、Vitamin K₃は $2.5 \times 10^{-3} \%$ (4万倍稀釀) に於て全く菌の発育を許さない。しかし $10^{-3} \%$ (10万倍稀釀) に於ては、菌糸は flask の周壁に附着してやや発育するが、flask の中央部に迄発育することはない。尙稀薄溶液 ($0.33 \times 10^{-3} \%$, 30万倍液) に於ては菌糸の発育が対照区の夫よりも僅かに良好となるようである。

(3). 種粒を Vitamin K₃ 溶液に浸漬後育成した水稻苗の胡麻葉枯病感受性。Vitamin K₃は極めて日光に不安定な物質であるので、これを保護薬剤として直接葉面に散布することは不利と考えられる。筆者等(10)はさきに β -indole acetic acid 等を用いて、その稀薄溶液中に種粒を一定時間浸漬し、その後播種育成して、成葉上の病害発生を観察したことがある。その方法に従つて Vitamin K₃液に就いても同様な実験を行つた。本実験は1952年から1954年まで継続したが、結果は年によつて多少異つていた。

まず1952年度に於ては、種粒を $2 \times 10^{-2} \sim 10^{-2} \%$ (5000~10,000倍) の Vitamin K₃ 溶液に 6~48時間、ベトリ皿中で 28°C 下で浸漬した。対照区では Uspulun 0.1% (1000倍液) に 6時間浸漬したが、浸漬後よく水洗して 1:50000 pot に播下した。播種後40日、草丈平均 25 cm のとき、供試菌分生胞子懸濁液を噴霧し、28°C の接種箱に 24 時間保つた後、温室内に静置した。10 日後病斑を測定した結果は第4表の通りである。

播種後の苗発育は、処理区に於て対照区のそれより著しく良好であつたが、漸次生育すると共に、その差は少くなつた。播種後 10 日及び 20 日目の苗の平均草丈は次表の通りである。

第3表 Vitamin K₃による種粒処理と稻苗 (京都府) の発育 (1952年度)

Dipping seeds in Vitamin K₃ solution and the development of seedlings.

Vitamin K ₃ 濃度 Conc. %	処理時間 Hours treated	苗長 cm Length of seedlings	
		10日後 10 days after seeding	20日後 20 days after seeding
Control	—	2.5	15.5
2×10^{-2}	6	4.5	16.2
10^{-2}	6	5.5	18.5
10^{-2}	24	4.0	14.5
10^{-2}	48	4.0	17.5

第4表 種粒の Vitamin K₃液処理と苗の胡麻葉枯病感受性 (1952年度)

Dipping seeds in Vitamin K₃ solution and the susceptibility to *Helminthosporium* leaf spot of seedlings.

V. K ₃ 濃度 Conc. %	処理時間 Hours treated	供試葉数 Number of leaves used	平均葉面積 Av. area of leaf, cm ²	罹病率* Degree of outbreak	発病抑制率 Per cent disease control
Control	—	36	4.2	6.2	0
2×10^{-2}	6	31	6.1	0.6	90
10^{-2}	6	50	5.2	0.9	85
10^{-2}	24	12	4.5	1.5	76
10^{-2}	48	54	4.5	0.7	89

* $(A + 0.5 B + 0.1 C)/0.5ab$

A, B, C: それぞれ大中小病斑数,

a, b: 葉長及び葉巾(最大), 1% 水準で有意。

上表の結果から明かなように Vitamin K₃処理水稟では明かに発病程度が低い。

1953年に於ては曲玉種を使用し、前年度とほぼ同様に種粒を浸漬した後育成した。而して接種試験には 1% sucrose 溶液で懸濁した胞子を噴霧し、26°C の接種箱に48時間保つた後、温室内に静置して、10日後発病を調査した。

第5表 種粒の Vitamin K₃ (0.01%) 液処理と苗の胡麻葉枯病感受性
(1953年度, 3回実験結果平均)

Dipping seeds in 0.01% Vitamin K₃ solution and the susceptibility to *Helminthosporium* leaf spot of seedlings.

浸漬時間 Hours of dipping	区別 Plot	供試葉数 Number of leaves used	平均葉面積 Average area of leaf, cm ²	平均病斑面積 Av. area of spot, mm ²	葉 1 cm ² 当病斑数 Number of spots per 1 cm ² of leaf	罹病率* Degree of disease outbreak	発病抑制率 Per cent disease control
12	Control	117	7.5	0.26	2.7	0.70	0
	Treated	169	6.8	0.19	1.4	0.26	63
24	Control	165	3.5	0.52	1.2	0.63	0
	Treated	151	3.8	0.40	0.9	0.34	46

* 罹病率 = (病斑面積 / 葉面積) × 100, ** 1% 水準で有意, *** 2.5% 水準で有意

本年度に於ても処理区の発病が少なかつたが、10⁻²% 液に24時間浸漬した場合には、多少薬害の徴候を認めた。

1954年度に於ては京都旭、曲玉、及び龜治の品種を使用して、水耕法によつて実験を行つた。木村氏処方(14)の水耕液を 1:50000 Wagner pot に満し、その上に 10ヶの穴をうがつたベニヤ板を置いて、草丈約 10 cm の苗をその穴に綿でもつて固定した。水耕液は 5 日毎に更新し

た。種子は、塩水選後、Vitamin K₃, 6 × 10⁻⁴ mol (約 1 万倍) の溶液中に 28°C 下で 12 時間浸漬し、後よく水洗して 7月 16 日に播種した。播種後 40 日目に、28°C 下で 15~18 日間馬鈴薯煎汁寒天上に培養形成せしめた供試菌胞子を接種し、接種後 5 日目に病斑数及びその面積を測定した。

第6表 Vitamin K₃ (6 × 10⁻⁴ mol) 液中での種粒浸漬と稻胡麻葉枯病の発生
(3回実験結果平均) (1954)

Dipping seeds in Vitamin K₃ solution (6 × 10⁻⁴ mol) and the outbreak of *Helminthosporium* leaf spot on rice plant leaves.

品種 Variety	区別 Plot	平均葉面積 Average area of leaf cm ²	I葉当病斑数 Number of spots per leaf	I病斑平均面積 Average area of spot mm ² (a)	葉 1 cm ² 当病斑数 Number of spots per 1 cm ² of leaf (b)	罹病率 (a × b) Degree of disease outbreak
京都旭 Kyoto-Asahi	Control	6.5	53.8	0.8	8.2	0.07
	Treated	6.4	34.2	0.6	5.4	0.03
龜治 Kameji	Control	8.4	67.6	0.5	8.1	0.04
	Treated	7.5	41.7	0.4	5.5	0.02
曲玉 Magatama	Control	7.7	59.2	—	7.7	—
	Treated	5.1	34.8	—	6.8	—

上表で明かな如く、1954 年度に於ても、対照区と比較して種粒処理区はほぼ 50% の発病抑制を示している。しかし曲玉種に於ては、やゝ明瞭を欠くようである。

以上 3ヶ年を通して、Vitamin K₃ 種粒処理は葉の胡麻葉枯病を減少せしめるようである。尙処理区の葉の平均面積は対照区に比して僅かに小さい傾向が認められるが、薬害と見做すべきものかも知れない。

(4). Vitamin K₃ を根から吸收せしめた場合の稻胡麻葉枯病感受性。COLWELL 及び McCALL(6) は蚕豆の Chocolate spot に対して Vitamin K₃ を土壤に灌注して発病抑制の効果があることを述べ、又福島(9)は水耕法に

より硫酸銅稀薄溶液を吸收せしめて、稻胡麻葉枯病感受性を減ずることを報じている。筆者等は上述の実験により種子浸漬処理が苗の胡麻葉枯病抵抗性を高めるのを認めたので、更に生育した苗の根から稀薄溶液を吸收せしめて、その感受性変化を観察した。京都旭種の播種後 40 日、草丈 28 cm の苗を、根を傷つけぬように注意して抜きとり、蒸溜水でよく洗滌した。周囲を黒紙で包んで遮光した硝子容器に 10⁻²% (1 万倍) 及び 0.5 × 10⁻²% (2 万倍) の Vitamin K₃ 溶液を用意し、それらの中に根を 48 時間浸漬した。浸漬後 蒸溜水でよく根を洗い、それ等を蒸溜水を盛つた水耕瓶に保つて直ちに供試菌分生胞

子を接種した。結果は第7表の通りである。

第7表 根から Vitamin K₃ を吸收せしめた稻苗の胡麻葉枯病感受性 (1952)

Susceptibility of rice seedlings to *Helminthosporium* leaf spot absorbed Vitamin K₃ by roots.

Vitamin K ₃ 処理濃度 Conc. %	供試葉数 Number of leaves measured	平均葉面積 Average area of a leaf cm ²	罹病率* Degree of disease outbreak	発病抑制率 Per cent disease control
Control	116	4.6	5.1	0
10 ⁻²	67	4.2	1.1	78
0.5 × 10 ⁻²	74	4.4	3.8	25

* 第4表 参照

上表の結果では、10⁻²% (1万倍) 液に根を浸漬した場合には、苗の感受性は著しく低下して対照区の約5分の1の値を示したが、0.5 × 10⁻² % (2万倍) 液ではその効果は劣るようである。即ち稻苗は Vitamin K₃ の微量を根から吸收することによつても、胡麻葉枯病に対して抵抗性を高め得るものと考えられ、処理区の病斑面積も亦対

照区より小さい。尚 10⁻²% 液処理では、初期に多少の葉害を認めるようである。

1954年筆者等は更に次の実験を行つた。即ち曲玉種の種粒を5月12日に 6 × 10⁻⁴ mol (約1万倍) の Vitamin K₃ 液に、12時間 28°C 下で浸漬し、その後播種水耕した (K-1)。水耕は前記の如く木村氏処方に従つたが(14)、播種後45日目に、即ち6月26日上記稻苗の半数を Vitamin K₃, 3 × 10⁻⁵ mol (約20万倍) を加えた水耕液に移して、3日間根から吸收せしめた (K-20)。而してその14日後、即ち7月10日には、K-20 処理水耕の半数を更に 6 × 10⁻⁶ mol (約100万倍) の Vitamin K₃ を含んだ水耕液に移して、育成した (K-20-100)。播種から60日目、即ち苗を 6 × 10⁻⁶ mol 液に移した翌日 (7月11日) 上記の水稻苗に接種試験を行い、5日後その病斑数、並に病斑面積を測定した。尚 3 × 10⁻⁵ mol 液に根を浸漬した場合には、多少の葉害が認められ、茎葉は萎縮したが、処理を終つた後は直ちに恢復した。而して 6 × 10⁻⁶ mol 液に浸漬した場合には、葉害を認めていない。結果は第8表の通りである。

第8表 種粒並に苗の Vitamin K₃ 処理と稻胡麻葉枯病発生
Dipping seeds and roots of seedlings in Vitamin K₃ solution and
the outbreak of *Helminthosporium* leaf spot of rice plants.

処理別 Treatment	平均葉面積 Average area of leaf cm ²	1葉当病斑数 Number of spots per leaf	病斑平均面積 Average area of spots × 100, cm ² (a)	1 cm ² 当病斑数 Number of spots per 1 cm ² of leaf (b)	罹病率 Degree of disease out- break (a × b)	発病抑制率 Per cent disease control
Control	10.6	180.3	0.43	17.1	7.4	0
K-1	10.1	120.2	0.36	11.9	4.3	42
K-20	7.9	83.4	0.28	10.6	3.0	59
K-20-100	8.6	94.3	0.43	11.0	4.7	36

以上の結果を検討するに、対照区と処理3区の間には有意差を認められたが、処理3区間に認められなかつた。しかし種子処理並に苗処理を行つたK-20区に於て罹病率(a × b)が最も小さい事は苗処理の効果を示していくものと思われる。尚葉面積が処理区に於て小さい事は前述の通りであつて、葉害を示すものであろう。

筆者等は更に曲玉・亀治両種の処理水稻を使用して土耕により実験を行つた。前記の如く処理をした種粒を砂床に播き、それ等の苗を植えつける際に、再び 3 × 10⁻⁵ mol の Vitamin K₃ 液に、室温下で浸漬した。3日後、それ等の苗を 1:50000 pot の土壤中に1本植としたが、その後の育成は常法に従つた。播種後65日目に病原菌胞子の懸濁液を散布接種して、その後調査した結果は第9表の通りである。

第9表 Vitamin K₃ による種粒並に苗処理後
土耕した稻葉上の胡麻葉枯病発生

The occurrence of *Helminthosporium* leaf spots on leaves of rice plants raised on soil after dipping seeds and seedlings in Vitamin K₃ solution.

品種 Variety	処理別 Treatment	平均葉面積 Average area of leaf cm ²	1葉当病斑 Number of spots per leaf	単位面積当 病斑数 Number of spots per unit area of leaf
Magatama	Control Treated	9.7 9.1	22.2 16.0	2.3 1.7
Kameji	Control Treated	9.6 9.3	20.6 11.0	2.1 1.2

本実験に於ては、供試葉数が少なかつた為か、検定の結

果有意差は認められなかつた。しかし対照区に比して処理区の病斑数が少いことは両品種とも同様である。

(5). 種粒処理水稻葉上での供試菌胞子の発芽 上記の諸実験によつて、Vitamin K₃ 処理が稻葉の胡麻葉枯病感受性を低下せしめることが明かであるので、筆者等は1954年処理水稻葉上での供試菌胞子の発芽を調べた。供試葉は第6表に用いたものと同じ一材料であつて、その第1葉(上位)の先端から長さ5cmを切り取つて、それ等を殺菌水を含ませた濾紙を敷いたベトリ皿中に3枚宛ならべた。翌日これ等の葉面に、やゝ濃い胞子懸濁液を撒布して28°Cの定温器に2時間保つた後、cotton blue 1%液で葉面上の胞子を染色して発芽率を測定した。結果は第10表の通りである。

第10表 種粒浸漬処理水稻葉上に於ける胡麻葉枯病菌分生胞子の発芽試験

Germination experiments of conidia of *Cochliobolus miyabeanus* on leaves of rice plants raised from treated seeds with Vitamin K₃.

品種 Variety	処理区分 Treatment	測定胞子数 Number of spores measured	発芽胞子数 Number of spores germinated	発芽率 Per cent germination
京都旭 Kyoto Asahi	Control Treated	1087 1005	727 753	66.9 74.9
亀治 Kameji	Control Treated	1094 1086	755 820	69.0 75.5
曲玉 Maga-tama	Control Treated	1063 1068	711 808	66.9 75.7

以上は3回実験結果の平均であるが、各品種各回とも両区間に発芽の差を認め難く、寧ろ処理区に於いて僅かに発芽が促進せられる傾向がある。達山(17)によると、葉面上に於ける胡麻葉枯病菌分生胞子は稻の品種は勿論、寄主と認められていない植物上に於てもよく発芽するものであるが、附着器形成率は異つている。従つて本実験の場合に於ても、胞子の発芽後附着器形成、更に侵入状態をよく観察すべきであるが、尚行つていない。

(6). Vitamin K₃ 種子処理水稻に対する病原菌の附傷接種 前記実験に於て明かなる如く、Vitamin K₃ 処理が稻葉上の胡麻葉枯病菌胞子発芽に影響を及ぼさないので、次に筆者等は処理稻に附傷接種を行つた。即ち葉面を軽く石英砂でこすつて表皮細胞膜に附傷せしめ、表皮細胞の機械的抵抗を除いて接種を行うものである。勿論このような方法では、細胞質に対する影響を無視することはできないが、結果は次の如くである。

第11表 Vitamin K₃ 種子処理水稻に対する附傷接種

Inoculation experiment on artificially wounded leaves of rice seedlings (Kyoto Asahi) raised from treated seeds with Vitamin K₃.

処理区分 Treatment	平均葉面積 Average area of leaf cm ²	1葉当病斑数葉1cm ² 中病斑数 Number of spots per leaf	Number of spots per cm ² of leaf
Sound	7.1	83.3	11.7
Wounded	5.9	83.4	14.2

上表の結果明かな如く、葉単位面積当たりの病斑数は附傷によつて1.2倍増加した。本実験に於ては、Vitamin K₃ 無処理の稻苗に就いて実験を行つていないので、明かな結論を下すことが出来ないが、筆者等(2)が先に行つた実験に於ては、附傷によつて増加した病斑数が健葉の2.8~4.7倍であることから考えると、Vitamin K₃ 処理は細胞膜の機械的抵抗よりも、細胞質に対してより影響を与えているもののように思われる。

(7). Vitamin K₃ 処理が水稻の生理に及ぼす影響

(a) 種粒発芽の際に及ぼす影響 Vitamin K₃ 処理が種子の発芽を促進することは前述の通りである。而して種子の発芽に際して最初の過程は貯蔵澱粉の分解であろう。従つて筆者等は Vitamin K₃ 処理が種子中の amylase の消長に如何に影響するかを調査した。

種粒を下表の如き濃度の Vitamin K₃ 液液に3日間没漬して、濾紙を敷いて湿室としたベトリ皿中に並べた。それ等を28°Cの定温器に保つて促芽し、後取り出してよく洗滌後16°Cに保つて発芽せしめた。実験には、2, 5, 8, 10日毎にとり出した幼苗の搾汁液を粗酵素液として、田川、大谷(15)に従つて40°C下、24時間中に分解する澱粉の量を還元糖であらわして、それを amylase の活性とした。結果は第12表の如くであつて、表中の数字は分解によつて生じた還元糖を MicroBertrand 法によつて滴定した KMnO₄ 液液の ml である。

第12表 Vitamin K₃ 種粒処理に伴う amylase の消長

Activity of amylase in the course of the germination of seeds* dipped in Vitamin K₃ solution.

経過日数 Days elapsed	Conc. of Vitamin K ₃ %			
	Control	5×10 ⁻³	10×10 ⁻³	20×10 ⁻³
2	** 0.28	0.51	0.24	0.24
5	0.83	1.77	1.78	0.97
8	2.60	1.88	0.89	0.78
10	3.51	2.42	1.18	1.11

* 種粒は各区50粒宛を使用した。

** KMnO₄ の滴定数 ml

上表に示した如く、*amylase* の活性は初期に於て、特に $5 \times 10^{-3}\%$ (2万倍液) 处理に於て著しいが、発芽8日後にはもはやその影響が明かでない。而して $20 \times 10^{-3}\%$ (5000倍液) では寧ろその活性は抑制せられる。尚この実験は定温器内で行われたものであるから、同化作用は行わぬ、植物体はやゝ徒長していた。

次に Vitamin K₃ 处理種子の発芽過程に於ける呼吸量を測定した。種子中の澱粉が *amylase* によつて分解せられて糖となり、それが最後には CO₂ となるものと考えられるが、その過程に対する Vitamin K₃ の影響である。

Vitamin K₃ の溶液中で3日間浸漬処理した種子50粒を秤量瓶にとり、更に 0.1N-NaOH 2 ml 瓶を入れたガラス小管瓶を入れて蓋をし、パラフィンで密封した。別に種子を入れないで、同様に装置したもの用意して、それ等を同時に 28°C の定温器におさめた。24時間後それ等の秤量瓶をとり出し、瓶中の NaOH をとり出して 1N 蔗糖で滴定し、種子を入れなかつたものの滴定数を差引いて、処理区間の比較を行つた。結果は第13表の通りである。即ち処理区では、特に $5 \times 10^{-3}\%$ (2万倍液) 处理区に於て、初期の呼吸増加が著しい。しかしこの呼吸量の増加も、発芽後9日に至ると対照区のものと大差ない程度となる。

第13表 Vitamin K₃ 处理種子の呼吸量の消長*

Change in the respiration in the course of the germination of treated seeds with Vitamin K₃ solution.

経過日数 days elapsed	Vitamin K ₃ の濃度 %			
	Control	5×10^{-3}	10×10^{-3}	20×10^{-3}
2	** 0.09	0.20	0.01	0.09
5	0.10	0.35	0.22	0.31
9	1.16	1.13	1.13	1.05

* 各区は秤量瓶3箇宛を使用した。

** N-蔗糖滴定数 ml.

(b). Vitamin K₃ 处理と葉の呼吸量変化 上述の如く Vitamin K₃ 处理した種子の発芽初期に於て、呼吸量が増高したが、葉の場合に於ても同様な現象が見られる。筆者等は土耕した無処理水稻曲玉種の上位から第2葉を午前10時に切り取つて使用した。即ち第1葉が丁度半ば抽出した状態のもので、その第2葉の長さ約30 cm のものを選んで根元から切断し、直ちに水道水並びに Vitamin K₃ の下表濃度の液に浸漬した。それ等を1昼夜室温に放置した後、翌日午後2時から Warburg 検圧計を使用して、筆者等(3)が先に行つた方法に従つて行つた。

結果は第14表の通りである。

第14表 Vitamin K₃ 液を吸収せしめた稻葉の呼吸変化と発病

The respiration and disease outbreak of *Helminthosporium* blight of rice plant leaves which were dipped in Vitamin K₃ solution.

	対照区 Control, dipped in water	処理区 Dipped in Vitamin K ₃ solution		
		6×10^{-6} mol	6×10^{-5} mol	6×10^{-4} mol
QO ₂	1.59	1.77	1.92	1.95
Number of spots per leaf	95.6	73.1	111.6	79.0

上表の如く、Vitamin K₃ を吸収せしめた稻葉では、その吸収は多少促進される傾向を認めたが、明かな有意差は認め難い。尚 6×10^{-4} mol 液 (約1万倍) に浸漬した場合には、導管に沿うて褐変壞死線があらわれた。而して使用した材料の1部に対する供試菌の接種試験の結果は上表に示した通りである。この場合処理による発病の変化には明かな傾向を認め難く、又病斑数と呼吸との間にても一定した関係を認めない。

(8). 種子に対する Na₂S₂O₃ (ハイポ) の影響 Vitamin K₃ の殺菌機構が酵素系の SH-group 把握と関係があることが報告されている(6)。Na₂S₂O₃ も亦同様な作用を有するものといわれ、山本(19)は染害の作用機構に関して、Cu, Hg 等が、植物体中の SH-group と結合した場合に、Na₂S₂O₃ によってその結合を置換せしめ得ると報じている。筆者等は、 6×10^{-4} mol の Vitamin K₃ 溶液に種子を12時間、28°C 下で浸漬し、直ちにその1部を更に次の様に同一温度下で Na₂S₂O₃、 6×10^{-3} mol 液に浸漬して、その後播種育成した。

1. Control 種子を水道水に 28°C 下で 24 時間浸漬
2. K-1 種子を 6×10^{-4} mol, Vitamin K₃ に 28°C 下で 12 時間浸漬
3. K-Na-24 (2) の種子の1部を 6×10^{-3} mol, Na₂S₂O₃ 液に 28°C 下で 24 時間浸漬
4. K-Na-12 (2) 処理の種子の1部を 6×10^{-3} mol, Na₂S₂O₃ 液に 12 時間、28°C 下で浸漬
5. Na-24 種子を 6×10^{-3} mol, Na₂S₂O₃ 液に 28°C 下で 24 時間浸漬

本実験は前記第8表の実験と同時に行つたものであつて、接種試験も播種後60日目に同時に行つた。結果は第14表の通りであつて、表中 Control 及び K-1 の結果は第8表と同一のものである。

第15表 種粒を Vitamin K₃ 並に Na₂S₂O₃ 溶液に浸漬後育成せしめた水稻葉の胡麻葉枯病感受性

Susceptibility to *Helminthosporium* blight of rice plant leaves raised from seeds treated with Vitamin K₃ and Na₂S₂O₃ solution.

處理区分 Plot	平均葉面積 Average area of leaf, cm ²	1葉當病斑數 Number of spots per leaf	単位面積當病斑數 Number of spots per unit area of leaf	発病抑制率 Per cent disease control				
				Control	K-1	K-Na-24	K-Na-12	Na-24
Control	10.6	180.3	17.1	0				
K-1	10.1	120.2	11.9	30				
K-Na-24	11.0	107.0	9.8	43				
K-Na-12	9.8	111.8	11.4	33				
Na-24	10.7	136.4	12.8	25				

上表の結果では、区間に明瞭な有意差を認め難いとはいえ、Na₂S₂O₃ を単用した場合に於ても、多少の効果があらわれるようであるので、更に確める予定である。

(9) Vitamin K₃ 種粒処理と収量* 上述の如く、Vitamin K₃ 溶液で処理した場合には、胡麻葉枯病の発生を可成り抑えるようであるが、筆者等は更に Vitamin K₃ 処理が水稻の収量に及ぼす影響を実験した。1953年5月中旬、10⁻²% 溶液に種粒を浸漬して(28°C, 24時間)、播種後ポットに定植育成した。これ等の水稻に胡麻葉枯病菌分生胞子を接種したが、処理区並に無処理区の水稻のポット当りの収量は第16表の通りである。

第16表 種粒の 10⁻²% Vitamin K₃ 液浸漬処理が水稻の収量に及ぼす影響

Effect of dipping seeds in Vitamin K₃ (10⁻²%) solution upon the yield of rice crop.

Pot No.	無接種区 Not inoculated		接種区 Inoculated	
	Control	Treated	Control	Treated
1	** 26.4	26.9	** 24.3	26.3
2	30.8	30.0	27.0	28.9
3	32.3	35.7	30.7	31.3
Av.	29.8	30.9	27.3	28.8

** ポット当りの粒種 gr. 数

上表の結果では、各区間に殆んど有意差を認め難く、且つ本実験はポットを使用しての結果であるから、この結果を直ちに実地の水稻に応用推論することはできない。しかし少くとも Vitamin K₃ 処理はその生育初期に屢々葉害を伴い、生育の遅延を来たすと云ふ、水稻の収量には余り著しい影響を與えないものということがで

きるようである。

論 議

Vitamin K₃ は水稻胡麻葉枯病菌分生胞子並に菌糸に対し顯著な発芽抑制及び発育抑制作用を示したが、その最低濃度は 2.5×10^{-3} % (4万倍)～ 1.25×10^{-3} % (8万倍) である。これ等は、富安・豊水(18) 等が酵母に於て観察したところとよく一致する。斯かる菌類発育抑制の機構に就いては、未だ充分明かでないが、COLWELL 及び MC CALL 等(6)は、SH 基を Vitamin K₃ が捕捉するため、SH 基を含んだ酵素の活性が低下するためであると報じている。

Vitamin K₃ の生物体内での役割に就いて、GAFFRON(13)によると植物細胞中には普通 10^{-8} mol 程度の Vitamin K₃ が含有せられており、それ等が呼吸の調節を行い、ある場合にはこれを促進せしめるという。又 MARTIUS & NITZ-LITZOW(12) によると、Vitamin K₃ は Cytochrome 及び Cytochrome C への酸素の移動に関係し、この系と好気的磷酸化酵素との間の調節を行なうものであるという。換言すれば呼吸と磷酸化との仲介をする物質というのである。

筆者等はこのような物質である Vitamin K₃ を種粒処理或は苗処理によって、稻に吸収せしめ生育せしめたのであるが、それ等の水稻に於て、胡麻葉枯病感受性を低下した機構は極めて複雑であり、未だ解明を行つていなし。筆者等は種粒処理を行つた水稻の汁液に就いて、*Staphylococcus aureus* を用いてその抗菌力を測定したが、明瞭な結果を得なかつた。而して処理穀の amylase 並に呼吸量はその発芽の初期に促進せられ、又 Vitamin K₃ を吸収せしめた稻葉では呼吸がやや促進せられる。

摘要

本論文に於ては、Vitamin K₃ の水稻胡麻葉枯病発生に及ぼす影響を論じた。

1. Vitamin K₃ は水稻胡麻葉枯病菌の分生胞子発芽並に菌糸の発育を抑制し、抑制の最低濃度は発芽に対しては 1.25×10^{-3} % (約8万倍)、菌糸発育に対しては 2.5×10^{-3} % (約4万倍) 附近である。

2. 種粒を Vitamin K₃ の 10^{-2} ～ 2×10^{-2} % 溶液中に 6～48時間浸漬した後、播種育成した場合に、胡麻葉枯病感受性を低下した。

3. 種粒の Vitamin K₃ 液処理後、播種して苗を再び同液で処理しても、胡麻葉枯病感受性の著しい低下はおこらなかつた。

4. Vitamin K₃ 処理を行つた種粒の amylase 作用並に呼吸作用は発芽の初期に於て促進せられる。又切断した稻葉に Vitamin K₃ 液を吸収せしめた場合にも、呼吸作用の促進が見られる。

* Forsch. Gebiet Pflanzenkrankh. (Kyoto) 5 (2) : 45-56, 1955 参照

5. 種粒を $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 溶液で処理した場合にも、苗葉の胡麻葉枯病感受性は僅か低下するようである。

6. Vitamin K₃ 種粒処理は生長後の稻に殆んど悪影響を及ぼさないようである。

引用文献

1. 阿部泰夫・増田 亭・Vitamin, 3 (2): 19, 1948.
2. AKAI, S. and Y. ASADA: Forsch. Gebiet Pflanzenkrankh. (Kyoto), 5 (1): 1-4, 1954.
3. _____ and H. TANAKA: Ibid. 5 (3): 95-104, 1955.
4. BYRDE, R. J. W. and D. WOODCOCK: Nature, 169: 503-504, 1952.
5. _____ and _____: Ann. Appl. Biol., 40 (4): 657-687, 1953.
6. COLWELL, C. A. and M. McCALL: Science, 101 (2632): 592-594, 1945.
7. _____ and _____: Jour. Bact., 51 (6): 659-670, 1946.
8. DAINS, R. H. and S. L. HOPPERSTEAD: Phytopath., 36 (3): 236-237, 1946.
9. 福島 茂: 日本植病会報, 11 (4): 162-171, 1947.
10. 逸見武雄: 稲熱病の研究, 東京, 1949.
11. LEAO, A. E. A. and A. de R. FURTADO: Myopathologia et Mycologia Applicata 5 (1): 120-124, 1952.
12. MARTIUS, C. und D. NITZ-LITZOW: Cell Chemistry, 12: 134-140, 1954.
13. McNEW, G. L. and H. P. BURGFIELD: Contr. Boyce Thomp. Inst. 16 (7): 357-374, 1951.
14. 齊藤 清: 作物水耕の理論と実際, p. 67, 1949.
15. 田川 隆・大谷義雄: 植物及動物, 10: 952, 1944.
16. 田中董樹: 酸酵工学雑誌, 29: 347-349, 1951.
17. 達山和紀: 植物病害研究, 5 (2): 67-70, 1955.
18. 富安行雄・豊水正道・野中 進・塚本隆一: 酸酵工学雑誌, 29: 187-190, 1951.
19. 山本隆司: 農業検査所報告, 3: 92-94, 1951.

Résumé

In the present paper the writers described the results of experiments on the effect of Vitamin K₃ (2-methyl-1, 4-naphthoquinone) upon the outbreak of *Helminthosporium* leaf spot of rice plants.

The susceptibility to the *Helminthosporium* leaf spot of rice plants decreased greatly, when seeds were dipped about $6 \sim 48$ hours in $10^{-2} \sim 2 \times 10^{-2}$ per cent Vitamin K₃ solution under 28°C , and then raised in Wagner pot.

The dipping roots of seedlings in $10^{-2} \sim 0.5 \times 10^{-2}$ per cent Vitamin K₃ solution also showed the inclination of decreasing the susceptibility to *Helminthosporium* leaf spot.

These treatments in Vitamin K₃ solution of rice seedlings or seeds generally give no bad influence upon the growth and the yield of the plants.

2,4-D 添加寒天培地に於けるオリーヴ炭疽病菌生育相の特殊性

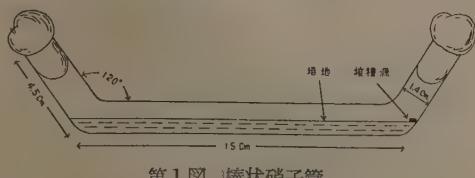
内藤中人・国方弘*

Nakato NAITO and Hiroshi KUNIKATA: The specific growth phase in *Gloeosporium Olivarium* on agar media containing 2,4-D.

筆者の一人内藤等はさきに、2,4-D 添加寒天培地に於けるオリーヴ炭疽病菌 (*Gloeosporium Olivarium* ALM.) の生育速度は培養と共に低下し、従つて 2,4-D の抑制効果は培養と共に著しくなるに対し(2), α -ナフタレン酢酸加里塩、ダイセーン及び硫酸銅の抑制効果は培養と共に減ずる傾向がある事から、2,4-D の本菌抑制作用は病原菌に対し直接作用すると考えられているこれ等薬剤と全く異なる機構に基くものと推定した(3)。其後本菌の 2,4-D 添加培養濾液中より一種の抗生物質を単離し(5), 且その生成は培養と共に増加する事が判明したので(4), 2,4-D 添加培地上で本菌がこのような特殊な生育曲線を示す理由が理解せられるに至つた。然し前回の実験は培養期間も短く、供試濃度も少なかつたので追試の必要を感じ、本実験に着手した。又 2,4-D 添加培養濾液中には抗生物質が生成されるが、無添加培地には生成をみないので(4,5), 本菌を 2,4-D 添加培地に對峙培養させると両コロニーの接触部附近に抑制帯を生じ、無添加培地では形成せぬものと推察し実験したところ、予期の結果を得たので併せ報告する。

1. 2,4-D 添加寒天培地上のオリーヴ炭疽病菌の生育相並にウスブルン、硫酸銅添加の場合との比較

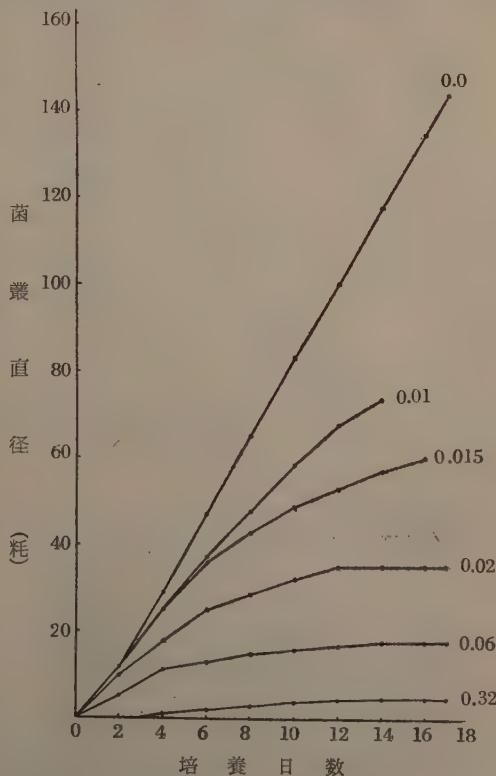
種々の濃度の 2,4-D Na 塩を添加したペプトン加用合成寒天培地 (研究室常用の处方の倍量, NH_4NO_3 のみは除く。ペプトン 20g, 蔗糖 50g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.4g, KH_2PO_4 1g, 2% FeCl_3 水溶液痕跡, 寒天 2%, 水 1L)



第1図 棒状硝子管

をベトリ皿に分注し、25°Cで17日間オリーヴ炭疽病菌を培養して毎日菌叢直径を測定した。然し 2,4-D 無添加の標準区では培養 9 日前後でベトリ皿一杯に伸長す

るので、標準区のみはベトリ皿のほかに特製の棒状試験管 (第1図) の一端にも菌を移植して菌叢の長径を測定した。尚比較のためにウスブルン、硫酸銅を夫々前者は同上培地に、後者はリチャード変法培地 (KNO_3 のみを酒石酸アンモニウム 10.6g/l に置換し 寒天 3%としたもの) に添加し供試した。1区5ヶ宛のベトリ皿を用い、ウスブルンのみは1回、他は2回実験したが、その平均結果を示すと第1表及び第2, 3, 4図の如くである。但し棒状管に於ける培養 8 日迄の菌叢長径はベトリ皿培養の菌叢の半径と略一致しているので (第1表), 若し大型のベトリ皿さえ使用すればその生育相は棒状管のものと大体一



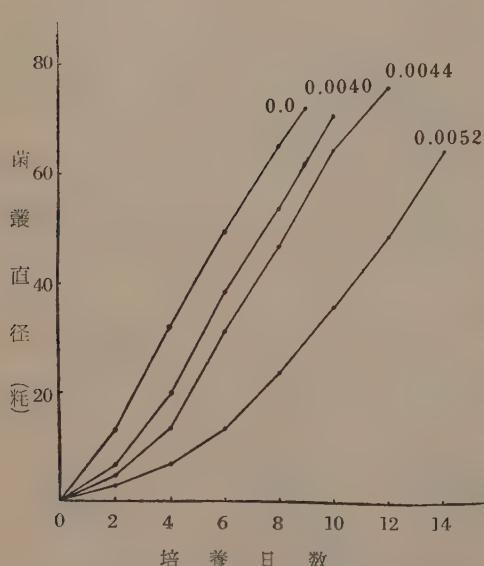
第2図 2,4-D を添加したペプトン加用合成寒天培地上に於けるオリーヴ炭疽病菌の生育相

* 香川農科大学植物病学研究室
1955年4月27日受領

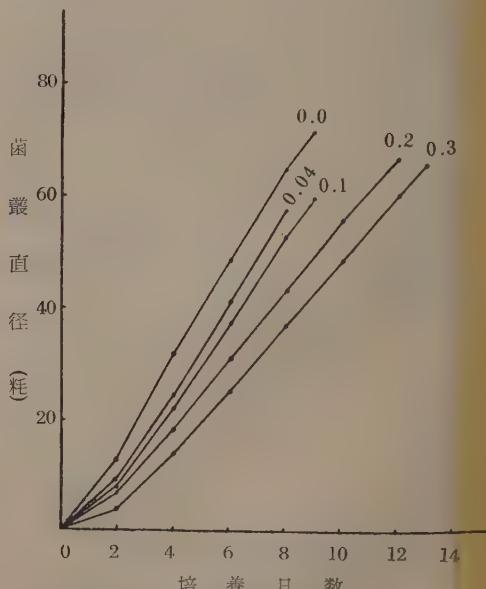
第1表 2,4-D, ウスブルン或は硫酸銅を添加した寒天培地上に於ける
オリーヴ炭疽病菌の菌叢直径 (mm)

薬剤	濃度 (%)	培養日数															
		2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
2,4-D	0.0(ペトリ皿)	13.1	21.2	30.5	40.9	49.1	57.7	66.6	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	0.0(棒状管)*	5.6	10.5	14.2	18.5	23.7	28.3	32.2	36.9	41.3	45.3	49.5	54.1	58.9	63.0	67.3	71.7
	0.01	11.6	18.2	25.0	31.9	36.7	42.2	46.9	51.9	57.3	62.5	66.8	69.8	73.1	—	—	—
	0.015	11.8	19.0	25.2	29.6	36.8	38.8	42.7	46.1	48.9	51.5	52.6	54.0	56.5	57.3	59.7	...
	0.02	9.4	13.9	17.8	21.9	24.7	26.7	28.4	29.9	31.5	33.0	34.3	34.3	34.3	34.3	34.3	34.3
	0.05	5.1	8.9	11.0	12.2	12.7	13.5	14.6	15.4	15.6	16.0	16.5	16.7	16.9	17.3	17.4	17.5
	0.32	0.0	0.0	1.0	1.3	1.4	2.2	2.3	2.8	3.4	3.7	4.0	4.3	4.4	4.6	4.8	4.9
ウスブルン	0.0(ペトリ皿)	13.0	22.8	32.1	40.3	49.2	57.2	65.3	72.1	—	—	—	—	—
	0.004	6.6	12.0	19.7	29.3	38.5	45.1	53.1	60.7	70.7	—	—	—	—
	0.0044	5.0	8.8	13.8	21.5	31.3	38.3	46.5	53.8	64.8	69.9	75.9	—	—
	0.0046	3.0	4.2	7.0	11.1	17.5	24.1	32.1	39.3	49.6	56.1	64.0	70.9	76.5	—
	0.0052	3.2	5.0	7.0	10.5	13.7	18.4	23.5	27.5	35.6	40.8	48.3	58.8	64.6	—
硫酸銅	0.04	9.8	17.4	24.5	32.6	41.3	49.1	58.3	—	—	—	—	—	—
	0.1	7.9	15.6	22.5	31.4	37.8	45.4	53.1	60.1	—	—	—	—	—
	0.2	7.3	12.5	18.8	25.4	31.3	37.8	44.2	50.0	56.4	62.1	67.8	—	—
	0.4	3.9	9.2	14.4	20.6	25.3	31.3	37.5	43.7	49.7	55.5	61.1	66.7	—

*は菌叢の長径を示す、—はペトリ皿に伸びきつたもの、...は測定しなかつたものを示す。



第3図 ウスブルンを添加したペプトン加用合成寒天培地上に於けるオリーヴ炭疽病菌の生育相



第4図 硫酸銅を添加したリチャード変法寒天培地上に於けるオリーヴ炭疽病菌の生育相

致するものと推定し、第2図の標準区のみは棒状管の菌叢長径の倍を以て図示した。一般に普通の寒天培地に於ける糸状菌の生育相は、生育初期の lag phase を経て直線状の logarithmic phase に入るものとされているが、本実験に於ても標準区のみならずウスブルン、硫酸銅添加区に同様の傾向が窺える。唯ウスブルンの場合は濃度

の増加と共に漸次 lag phase が延長されるようである。硫酸銅に於ては 0.3 % 以上の濃度の生育相が知りたかったのであるが、硫酸銅が培地で結晶するためこれ以上の濃度の実験が不可能であつた。病原菌に対し直接的な抑制作用を示す様な物質を添加する時は、大体硫酸銅やウスブルンの場合と同様の生育相を示すものと推定する。

Malachite green の *Fusarium solani* 菌発育に及ぼす影響に関する赤井等(1)の実験結果を plot してみても同様であった。之に反し 2,4-D の場合の生育相は何れの濃度とも大体指型曲線を呈し即ち培養の進むに従いその生育速度は減少しており、且この生育曲線を保ちつつ低濃度では標準区の生育線に、高濃度では水平軸に近づく。然して 2,4-D の示す此様な生育曲線は培養中の pH の変化に基くものでない事を確めているし、2,4-D 添加区よりも遙に生育の良好な標準区で直線状の生育を示す事からも容易に推察せられる如く、2,4-D 添加培地中には培養後も蔗糖、窒素源は相当量残存しているので栄養源の消耗によるものとも考えられない。一方又 2,4-D 添加培養の濾液中には一種の抗生物質が生成せられ(5)、その生成量は少くとも培養 24 日迄は培養の進む程多くなる事を明かにしているので(4)、この特殊な生育曲線は本抗生物質に主因があるものと思考する。

2. 抗菌性物質の病原菌発育に及ぼす抑制効果と同物質添加寒天培地に於ける病原菌生育相との関係

抗菌性物質を添加した寒天培地に於ける植物病原糸状菌の 2,3 生育型と該物質の病原菌発育に及ぼす抑制効果との関聯に就き少しく考察を試みてみることとする。

今第5図[I]の如く、無添加区、添加区に於ける生育相が夫々 oy , oz の様に何れも直線を示す型のものとする。培養 x 日に於ける添加区菌叢直径 zx の無添加区菌叢直径 xy に対する指數を以て培養 x 日の時の抑制効果を表わすこととすれば、培養日数 $x_1, x_2 (x_2 > x_1)$ とする時の抑制効果の比は次の様な簡単な式で判る如く 1 であつて、即ち抑制効果は培養日数の如何に拘らず常に不変である事を示す。

$$\frac{x_1 z_1}{x_1 y_1} \cdot \frac{x_2 z_2}{x_2 y_2} = \frac{x_1 z_1 \cdot x_2 y_2}{x_1 y_1 \cdot x_2 z_2} = \frac{x_2 y_2}{x_1 y_1} \cdot \frac{x_1 z_1}{x_2 z_2}$$

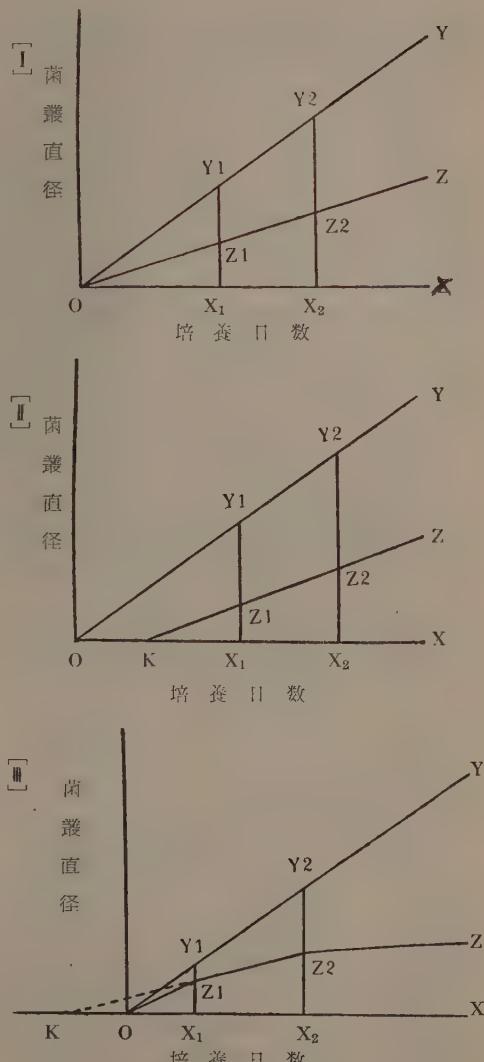
$$= \frac{ox_2}{ox_1} \cdot \frac{ox_1}{ox_2} = 1$$

次に [II] の様な型に属するものでは次式の通りこの比は 1 より小さく、即ち培養の進むに従い抑制効果が減少する理窟になる。ウスブルン、硫酸銅の本菌に対する抑制、又前述の *Fusarium solani* に対する malachite green の場合等が之に属しているが、抗菌性物質の多くはこの型に入るものと考える。

$$\frac{x_1 z_1}{x_1 y_1} \cdot \frac{x_2 z_2}{x_2 y_2} = \frac{x_1 z_1}{x_1 y_1} \cdot \frac{x_2 y_2}{x_2 z_2} = \frac{x_2 y_2}{x_1 y_1} \cdot \frac{x_1 z_1}{x_2 z_2}$$

$$= \frac{ox_2}{ox_1} \cdot \frac{kx_1}{kx_2} = \frac{ox_2}{ox_1} \cdot \frac{ox_1 - ok}{ox_2 - ok} = \frac{ox_1 \cdot ox_2 - ok \cdot ox_2}{ox_1 \cdot ox_2 - ok \cdot ox_1} < 1 (\because ox_2 > ox_1)$$

又培養の進むに従い生育の衰えてくる [III] 型では次式の如くこの比が 1 より大で、即ち培養と共に抑制効果が



第5図 抗菌性物質を添加した寒天培地上に於ける病原菌生育相の模式図

増大する ($z_1 z_2$ の延長線が水平軸と交する点を k とする)。
2,4-D の生育相は

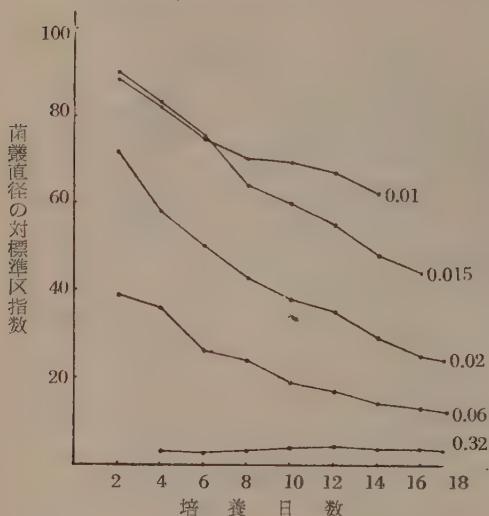
$$\frac{x_1 z_1}{x_1 y_1} \cdot \frac{x_2 z_2}{x_2 y_2} = \frac{x_1 z_1}{x_1 y_1} \cdot \frac{x_2 y_2}{x_2 z_2} = \frac{x_2 y_2}{x_1 y_1} \cdot \frac{x_1 z_1}{x_2 z_2}$$

$$= \frac{ox_2}{ox_1} \cdot \frac{kx_1}{kx_2} = \frac{ox_2}{ox_1} \cdot \frac{ox_1 + ok}{ox_2 + ok} = \frac{ox_1 \cdot ox_2 + ok \cdot ox_2}{ox_1 \cdot ox_2 + ok \cdot ox_1} > 1 (\because ox_2 > ox_1)$$

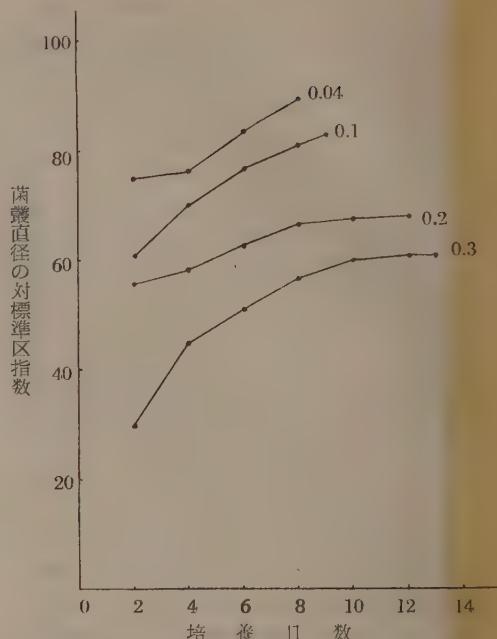
前述の如くこの型に属する。

第1表の結果より、これ等薬剤の抑制効果と培養日数との関係を明かにするため対標準区指數を求めて図示し

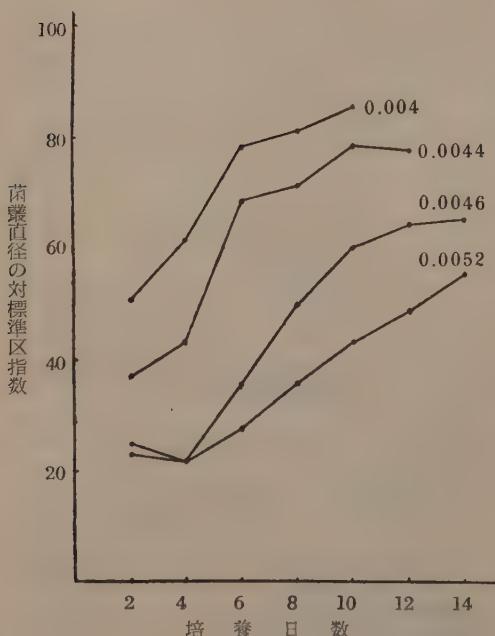
てみると第6,7,8図の如くなる。但し培養9日以後の標準区は棒状管に於ける菌叢長径の2倍として算出した。



第6図 2,4-Dを添加したペプトン加用合成寒天培地上に於けるオリーヴ炭疽病菌々叢直径の対標準区指数



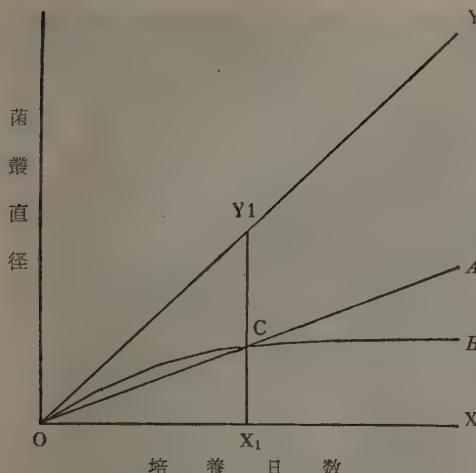
第8図 硫酸銅を添加したリチヤーグ変法寒天培地上に於けるオリーヴ炭疽病菌々叢直径の対標準区指数



第7図 ウスブルンを添加したペプトン加用合成寒天培地上に於けるオリーヴ炭疽病菌々叢直径の対標準区指数

その結果ウスブルン及び硫酸銅の場合は培養と共に指数が増大し抑制効果の減少を物語つているが、2,4-Dの場合には逆に培養と共に漸次指数が低下し抑制効果の増大する事を示し、上述の生育相より理論的に推定される関係とよく一致している。

従来作物病害防除剤の病原菌々系の伸長に対する抗菌力値を室内実験により検する場合、一定の培養日数の結果で比較することが多かつたが、前述の数例から推しても、第5図[I]型に属する薬剤間の比較であれば問題はないが、[II] [III]の型の場合は培養経過日数を考慮して検討せねばなるまい。又ある薬剤の病原菌に対する作用を試験する際はその添加培地上に於ける生育型を究明しておく事も必要であると言わねばならぬ。特に[III]型の抑制効果は短期間の培養では顕著でないため過少評価しがちであるが、培養の進む程効力が増大するという特性は注目に値すると思う。今第9図に示す如く、無添加区の生育相がoyの直線であるに対し、2種類の薬剤を添加した時の生育相が夫々oA, oBであつたとすれば、それらの交点の時の培養日数x₁迄はAの抑制効果がBよりも大であるが、培養がx₁日を越えると逆にBの抑制効果の方がAより大となり、その差は培養の進む程著しくなる。又何れの型の薬剤も濃度の稀薄な時は無添加区の



第9図 病原菌の生育相を異にせしめる2種抗歯性物質の抑制効果と培養経過日数との関係

生育線に、高濃度では水平軸に近づくものであろうから、ある薬剤を添加した培地上の生育型を摑むにはこのような両極端の濃度は不適当で、本実験の結果から推してそれは中間の濃度が最も適当と考えられる。

3. 2,4-D 添加培地に於けるオリーブ炭疽病菌の對峙培養

菌類を拮抗菌と對峙培養すると、拮抗菌の生成する抗生素質のために両コロニーの接触部附近に抑制帯が生ずる事は周知の事実である。オリーブ炭疽病菌は2,4-D 添加培地に一種の抗生素質を生成するが(5)、無添加培地では生成されない事を確認しているので(4)、本菌を添加及び無添加の両培地に對峙培養すると前者には抑制帯を生じ、後者には形成せぬものと推定した。そこで0.02% 2,4-D 添加及び無添加のリチャード変法寒天培地(前述と同一処方)を分注したペトリ皿で、両接種源の間隔が夫々1, 2, 3, 4, 5, 6 及び7 cmとなるようにして25°Cで對峙培養を行つてみた。実験は2回繰返したが何れも予想通りの結果を示し、即ち無添加培地では凡ての区が培養13日迄に菌糸の接触を見たに対し、添加培地では接種源の間隔が3 cm以上の区は凡て、培養30日に至つても1.5~3 mmの抑制帯を生じたまま変化がない(第10図)。若し2,4-Dの本菌に対する抑制が菌に対する直接的の作用のみに基くものであれば、2,4-D 添加培地上の発育は悪いにしても、このように長期間抑制帯を生じたままであるとゆう事はありえまい。接種源の間隔が1及び2 cmのものに抑制帯の全く見られないのは、抗生素質がある程度の量生成される迄には若干の日数を要する事を示すものであろう。

摘要

1. 2,4-D を夫々 0.01, 0.015, 0.02, 0.06, 0.32% となるよう添加したペプトン加用合成寒天培地に、オリーブ炭疽病菌 (*Gloeosporium Olivarum ALM.*) を25°Cで17日間培養したところ、指數型の生育曲線を示した。即ち培養経過日数と共に生育速度は減少し、2,4-D の抑制効果は増大した。これに反しウスブルン或は硫酸銅添加の培地では大体直線状の生育相を示し、これ等薬剤の抑制効果は培養と共に減少する。

2. 本菌を0.02% 2,4-D の添加培地に両接種源の間隔が夫々 1, 2, 3, 4, 5, 6 及び 7 cm となる様にして對峙培養する時は、3 cm 以上の間隔の区は凡て両コロニーの接触部附近に1.0~3.0 mm の幅の抑制帯を生ずるが、無添加培地では全くその形成をみない。

3. 2,4-D 添加培地では本菌は一種の抗生素質を生成する事が判明しているので、2,4-D 添加培地に於ける上述の特殊な生育曲線及び抑制帯の出現は本抗生素質の生成に基くものと思考する。

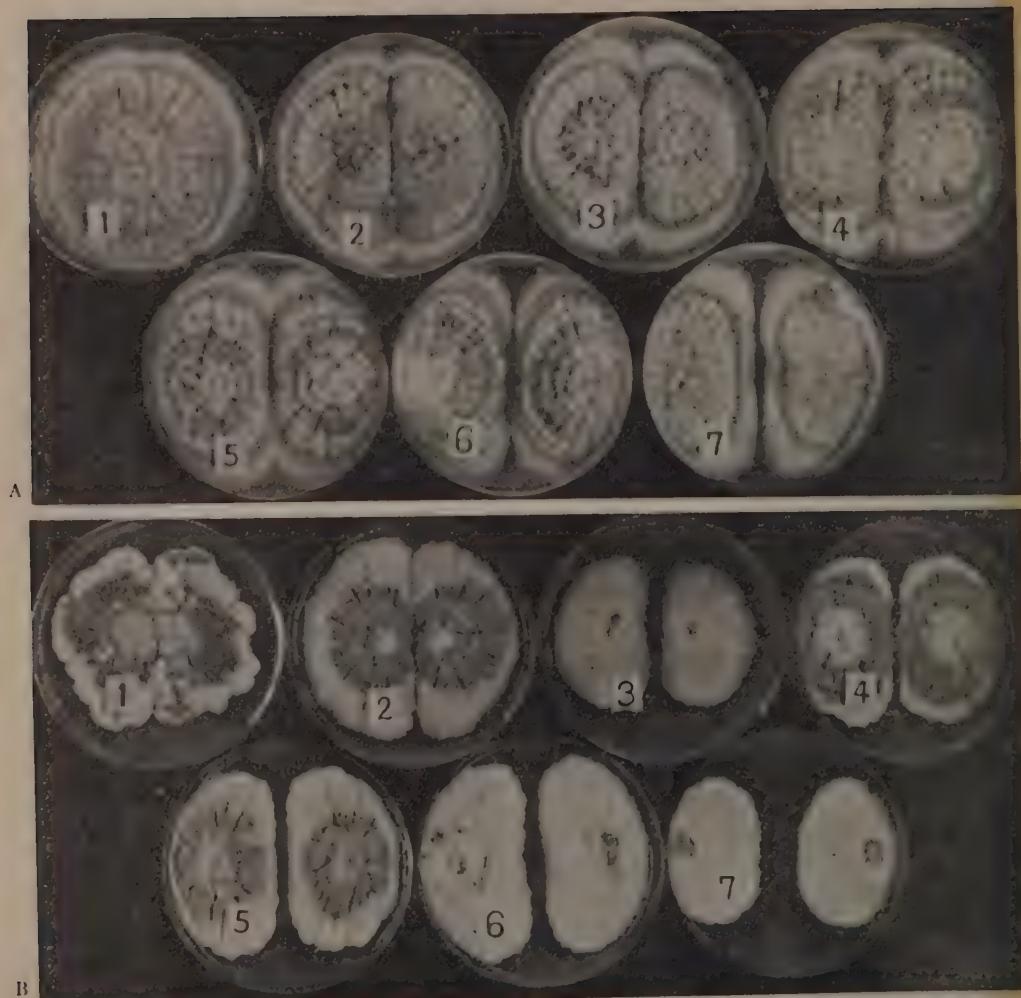
引用文献

- 赤井重恭・青木襄兒：日植病報，18(3,4)：128-129, 1954.
- 内藤中人・谷利一：香川農科大学々術報告, 3(2)：80-90, 1951.
- _____, _____：同上 7(I), 1955 (投稿中).
- _____, _____：柄内吉彦・福士貞吉両教授還暦記念論文集, 185-189, 1955.
- _____, _____：日植病報, 19(3,4)：129-132, 1955.

Résumé

1. *Gloeosporium Olivarum* was cultured for 17 days at 25°C on pepton agar media containing 0.01, 0.015, 0.02, 0.06, 0.32% 2,4-D respectively. The growth curve of the pathogen on these media was found to be "log type", indicating that with the duration of culture the growth rate of the causal fungus decreased and the inhibitory activity of 2,4-D increased progressively. On the contrary, the growth phase of the mycelium on media containing either CuSO_4 or uspulun was linear type, being similar with that of control not containing 2,4-D, and the inhibitory activity of these chemicals decreased with the age of the culture.

2. When two colonies of the present fungus were cultured together in the same Petri dish with different intervals between two inocula such as 1, 2, 3, 4, 5, 6,



第10図 セリオニテルスのリチドーラを法寒天培地上に於ける生育培養、A. 2,4-D 無添加 (13
箇間培養のもの), B. 0.02% 2,4-D 添加 (15箇間培養のもの), 1~7の番号は上二行に
の距離が夫々 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 cm のもの

and 7 cm, they came into contact at any distance between them, if they grew on media not supplied with 2,4-D. However, on media 2,4-D added, they are separated forming an inhibition zone with the width of 1.6-3.0 mm even at the end of culture for 30 days.

3. Since another investigation by the authors indicates that the causal fungus produces an anti-

biotic on media containing 2,4-D, the specific growth curve as well as the production of an inhibition zone above mentioned are considered probably due to this antibiotic.

Laboratory of Plant Pathology,
Kagawa Agricultural College

桃生樹の材質白色朽を基因するサクラサルノコシカケ *Phellinus pomaceus* (PERS.)

QUÉL. に関する生理學的研究 *

高 井 省 三 **

Shōzō TAKAI: Physiological studies on *Phellinus pomaceus*

(PERS.) QUÉL. causing the white rot of stems of peach.

I. 緒 言

昭和 26 年 7 月、筆者は京都府竹野郡弥栄村にある京都府立農事試験場丹後支場砂丘試験地内の桃樹が腐朽菌の侵害をうけて材は腐朽し、茎基部分岐部の裂損を原因しているのを見た。筆者はそれを *Phellinus pomaceus* (PERS.) QUÉL. サクラサルノコシカケによる被害と同定した。同菌に就いては、逸見(9) (1915) が北海道に於て、エゾヤマザクラの樹皮面に発見し、LLOYD(14) がそれを *Fomes pomaceus* PERS. と同定したが、安田(21) は同一標本に対して、サクラサルノコシカケなる和名を与えた。尚 REA(17) は本菌の学名を *Fomes pomaceus* (PERS.) BIG. et GUILLE. としたが、RAMSEYTON は *Fomes pomaceus* QUÉL. なる学名を使用している。

逸見等(9) の調査によれば、本菌は *Prunus* 属の樹木のみを侵すものの如く、就中心材を激しく侵害して果樹園に大害をもたらす事がある。本菌に関しては FISCHER (4) は主として侵害された桃材の腐朽進行の各段階について、解剖学的解明を試みているが、一般に本菌に関しては形態学的研究に止まつて、生理学的研究が少ない。筆者は前記の桃果樹園が、本菌の激甚な侵害を受けて甚しく荒廃化しつつあるのを目撃したので、本菌を分離培養して聊か生理学的諸性質の研究を行つた。

本稿を草するに当たり、実験中終始御懇切な御指導を賜わつた赤井教授、実験材料採集に御便誼を与えられた京都府立農事試験場田村茂氏、並に種々助言を頂いた研究室員諸氏に深謝の意を捧げる。

II. 供試菌の分離

供試菌の分離には、子実体又は腐朽材の表面を殺菌メスで切り落して、新しい断面をつくり、そこから殺菌メ

スで小片を採取して、予め準備したペトリ皿中の乾杏煎汁寒天培養基上に移した。夫等は 28°C の定温器に保つて、6 日後に発育した無色乃至淡黃白色菌糸を試験管斜面培養基上に移植して実験に供した。

III. 被害桃材の腐朽状態

本菌の侵害は手入の悪い果樹園の、樹齡壯年以後の桃樹に多く、樹幹の地表面より高さ約 1 m 以内の箇所に多く子実体を着生している。本菌は心材腐朽性であるため材の強度を減じ、樹幹の分岐部では、果実及枝葉の重みに耐え兼ね、樹幹が裂損、更に倒伏するものが少くない。本菌に侵された被害材では、完全に腐朽した部分は白色に変じ、極めて柔軟になつてゐる。而して腐朽の進行は中心から放射方向よりも年輪に沿うて切線方向に早いので、腐朽の余り進行しない秋材部と、腐朽が著しい春材部とが同心円的に比較的明瞭に現われる。一般に心材部材質は完全に腐朽している事が多いが、同時に形成層直下の最外部辺材部が完全に腐朽していることもある。而して腐朽した材質が白色を呈している所から本菌は lignin 溶解菌と想像せられたが、これ等の事項に関しては逸見、赤井(9) 及 FISCHER(4) 等の見解と同様である。

IV. 供試菌の生理学的諸性質

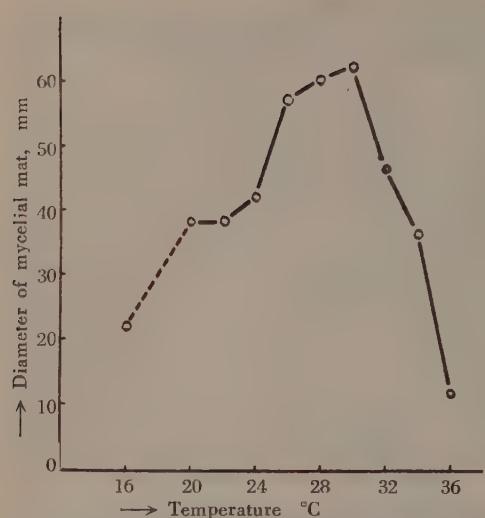
1. 菌糸発育と温度との関係 本菌の菌糸発育と温度との関係については未だ報告がないので、筆者は先ず温度試験を行つた。培養基には馬鈴薯煎汁寒天培養基、乾杏煎汁寒天培養基、麦芽煎汁寒天培養基、醤油寒天培養基、及び Richards 寒天培養基等(19) を用い、夫等は調製殺菌後、水素イオン濃度を 0.1N-KOH 及び HCl で pH 5.5 附近になるように規正して、殺菌ペトリ皿に約

第 1 表 馬鈴薯煎汁寒天培養基上に於ける病原菌の発育と温度との関係
(3 回実験結果平均)

Relation of temperatures to the mycelial growth of the causal fungus
on potato decoction-sucrose agar after 9 days incubation.
(Average result of three repeated experiments.)

Temperature °C	16	20	22	24	26	28	30	32	34	36
Diameter of mycelial mat, mm	22	38	38	42	57	60	62	46	36	12

* 京都大学農学部植物病理学研究室業績 No. 82, 材質腐朽に関する研究 XIV, ** 林業試験場



第1図 供試菌の菌糸発育と温度との関係
Temperature-growth curve of *Phellinus pomaceus* on potato decoction-sucrose agar. (9 days incubation).

20 ml 実分注した。まず馬鈴薯煎汁寒天培養基を用いて、16°-36°C の温度に9日間発育せしめた菌糸直径は第1表及び第1図の如くである。

第1表及び第1図の結果では、菌糸発育量は30°Cに於て最大を示したが、この温度下での発育と各区の発育とをそれらの平均値について検討してみると(20), 28°C区との間に差が認められない外は、何れも有意差が認められた。従つて28°-30°C附近に最適点があるものと思われるが、尚両区間に発育上差のない事を確認するために、乾杏、麦芽煎汁寒天培養基、醤油寒天培養基、Richards寒天培養基(19)を用いて、前記と同様に実験を行つた。結果は第2表の通りである。

第2表 4種の培養基上に於ける供試菌の菌糸発育と温度との関係
(3回実験結果平均)

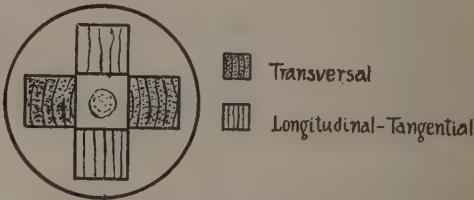
Relation of temperatures to the mycelial growth of *Phellinus pomaceus* on four different media.
(Average of three replications.)

Temp. °C	Diameter of mycelial mat mm				
	Apricot		Malt	Shoyu	Richards
	*	**	***	****	*****
28	50.0	52.8	25.2	41.3	60.0
	54.8	54.6	30.3	43.0	61.8
Sign. differ.	-	-	+	-	-

* Apricot decoction agar.
** Malt decoction agar.
*** Dilute Soy onion-decoction agar.
**** Richards' nutrient agar.
***** Potato decoction-sucrose agar.

上表から明かな如く、本菌菌糸の発育に関しては、28°Cと30°Cとの間に殆ど有意の差が認められない。尚第1図の発育温度曲線からもわかる如く、24°Cを限界として発育速度に変化を生ずるようであつて、24°C以下では発育速度遅く、24°C以上になると急に速度をまし、30°C附近を頂点としてそれ以上の温度では発育は急に衰退する。

2. 材質腐朽と温度との関係 筆者は供試菌の材質腐朽と温度との関係を明かにするため、次の如き温度試験を行つた。供試菌は桃樹を侵害すること極めて甚しいので供試材に桃材(直径約12 cm)を使用したが、別に筆者の研究室に保存されていた柳材をも供試した。而して供試材片は桃材よりは材心を囲んで一断面から4ヶ宛を、柳材からは任意に夫々2×2×1 cmの角片を、木口方向(transversal)及板目方向(longitudinal-tangential)に扁平な2種類を製材した。各材片は接種前に絶乾重量を求め充分吸水せしめた後殺菌し、予め Erlenmeyer型広口フラスコ中の麦芽煎汁寒天培養基(約80 ml)上に30°Cで10日間発育せしめた供試菌菌糸上に、第2図の如く木口(transversal)方向及板目(longitudinal-tangential)方向の供試片を夫々2ヶ宛投入した。而して1区につき供

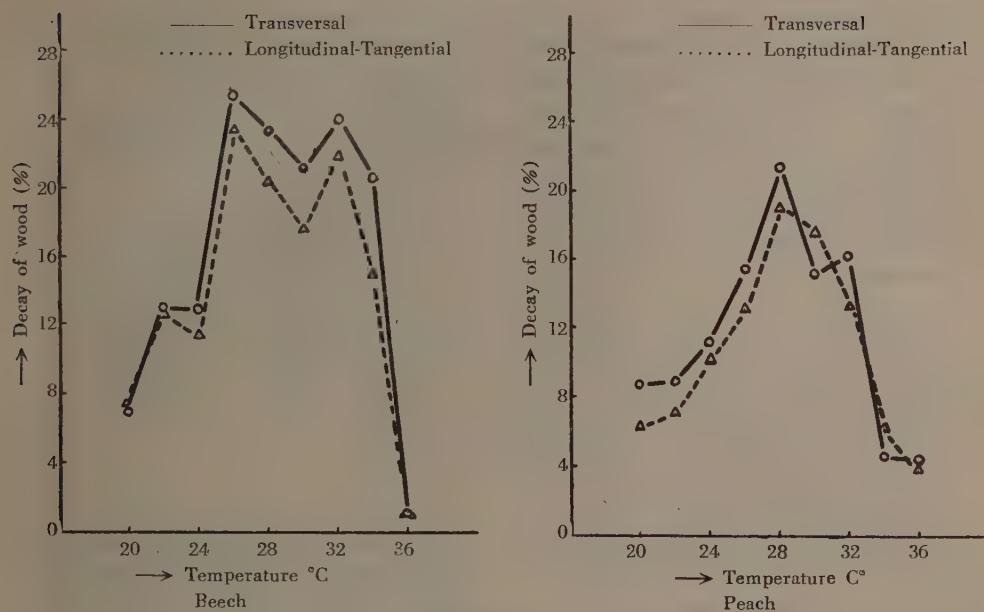


第2図 供試片接種の方法
Method of placing wood-blocks on the mycelial mat of the causal fungus in a flask.

試片は両方向共4ヶ宛とし、夫等は20°-36°Cを9区に分けて定温器に入れ、9週間後に取出して再び絶乾重量を求める。腐朽前後の重量差から重量減少率を求める、腐朽率とした。その結果は第3表及び第3図の通りである。

第3表 供試菌の侵害に基く材質腐朽と温度との関係
Relation of temperatures to the decay of beech and peach wood-blocks, due to the attack of the causal fungus.

Temp. °C	Decay per cent (Average loss of dry weight)			
	Beech		Peach	
	Trans- versal	Longitudinal- tangential	Trans- versal	Longitudinal- tangential
20	7.0 %	7.4 %	8.9 %	6.1 %
22	13.1	13.0	9.0	7.0
24	12.9	11.4	11.2	10.1
26	25.4	23.4	15.4	13.1
28	23.4	20.4	21.4	19.1
30	21.2	17.6	15.2	17.6
32	24.0	22.0	16.2	13.2
34	20.7	15.0	4.5	6.2
36	1.3	1.2	4.4	3.8



第3図 供試菌の材質腐朽と温度との関係

Relation of temperatures to the decay of wood blocks attacked by the causal fungus.

以上の結果から両材種共木口 (transversal) 方向のものと板目 (longitudinal-tangential) 方向のものよりも腐朽が激しかつた事がわかる。各材種共 2 種類の供試片の示す腐朽率と温度との関係は極めてよく類似している。而して両材種共 20°-22°C 近は腐朽率に急変をみないが、24°C 以上から急激に腐朽率を増し、桜では木口 (transversal), 板目 (longitudinal-tangential) 両方向共 26°C で最高を示し、34°C 以上では急降する。桃でも桜同様の変化を辿つているが、28°C に於て最高の腐朽率を示し、32°C 以上では急に下降する。

3. 酸化酵素 (Phenoloxidase or phenolase) 反応
BAVENDAMM (1) は 1928 年、培養基中に tannic acid 又は gallic acid 等 phenol 誘導体を添加すると、lignin 溶解菌は培養基上に褐色の酸化帯を生ずるが、cellulose 溶解菌はそれを生じない事を報じた。爾来 BAVENDAMM 酸化酵素反応として木材腐朽菌の材質腐朽型の一判別法とされており、筆者の研究室に於ても既に多数の腐朽菌についてこの反応が試みられている(9)。

筆者は供試菌の腐朽型決定の目安を得るためにこの反応を試みた。先ず乾杏 15g, 蔗糖 20g, 寒天 40g, 水 1000ml よりなる培養基を用い、その pH を約 6 附近に規正した。その後高圧殺菌釜で 1 気圧加压殺菌後、培養基に試葉の濃度が 0.05, 0.1, 0.5, 1% になるように hydroquinone, gallic acid, guajacol, phloroglucinol, pyrogallol, tannic

acid, tyrosine 及 resorcinol を夫々加え、Koch 殺菌釜で 1 回殺菌後、ペトリ皿に分注した。夫等に供試菌を移植し、30°C の定温器に 1 週間培養後、各区菌糸の発育程度、並に酸化帯の形成の有無を検査した結果は第 4 表の通りである。

本試験中明瞭な酸化帯を生じたものは、guajacol, gallic acid, phloroglucinol, resorcinol, tannic acid 及 tyrosine であり、稍不明瞭なものは pyrogallol である。Hydroquinone は酸化帯を生じなかつた。又菌糸の発育に対しては hydroquinone は阻害著しく、pyrogallol も亦稍々著しかつた。Phloroglucinol, tannic acid, gallic acid 及 tyrosine は比較的阻害が軽かつた。

4. 繊維素分解作用 上述の結果から、供試菌は BAVENDAMM 反応陽性が lignin 溶解型の性質をもつ事を確めたが、BAVENDAMM 反応陽性的菌必ずしも lignin のみを選択性的に溶解利用するものではなく、lignin 及 cellulose をも共に利用し得るものもあり、更に材の褐色朽型を示す cellulose 溶解菌と思われるものの中にも、反応陽性を示して、実際 lignin 分解能を具えているものもあるという(3)。従つて筆者は供試菌に cellulose 分解能があるかどうかを知る為、菌体磨碎液を試験した。Cellulose は cellulase 及 cellobiase によつて、cellobiose を経て glucose に迄分解される事は周知の事実であるが、筆者は cellulose 基質に対して酵素液が作用するとそれ

第4表 培養基上に於ける供試菌の phenolase 反応 (BAVENDAMM 反応) (2回実験結果平均)
 Phenolase reaction (BAVENDAMM's reaction) of the causal fungus grown on culture
 media containing phenolic compounds. (Average of two replications.)

Reagent added	Color reaction by oxidation					Mycelial growth mm					* Color of oxidation zone
	** 1	0.5	0.1	0.05	0	** 1	0.5	0.1	0.05	0	
Hydroquinone	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Guajacol	—	±	±	+	—	—	—	—	—	22	Carrot red
Gallic acid	±	±	+	+	—	±	+	23	32	Antique-brown	
Phloroglucinol	—	±	+	+	—	±	32	44	—	Deep chrome	
Pyrogallol	—	—	±	±	—	—	±	±	—	Sanford's-brown	
Resorcinol	—	—	+	+	—	—	—	9	34	Deep chrome	
Tannic acid	+	+	+	+	—	5	6	25	32	Raw sienna	
Tyrosine	+	+	+	+	—	8	13	16	18	Argus brown	
Control	—					—					46

* Ridgway: Colorstandard and Nomenclature, 1912.

** Concentration of the reagents, %.

— No growth or no reaction.

ば、その結果 glucose が生産されるものとして、生じた還元糖量を定量して、以て cellulose 分解力を試験した。本実験に使用した材料及方法は次の通りである。

基質 : i) hydrocellulose 2% 水懸濁液
 ii) hydrocellulose 2% + 硫酸 - lignin 0.85% 水懸濁液⁽¹⁾

酵素液 : 馬鈴薯煎汁培養液に供試菌を植え、30°C に1ヶ月間保ち、菌体を取出して石英砂で磨碎し、生菌体重の10倍に水を加え、toluol で液面を被い、雑菌の繁殖を防ぎつつ 40°C で2時間浸出した。浸出液は濾過及び遠心分離により、菌体及石英砂等の不純物を完全に除いた透明な液を酵素液とした。

緩衝液 : 枸橼酸-磷酸緩衝液

測定方法 : Micro-Bertrand 法(10)

本実験を開始するに先立つて、予備的に基質の還元力

を測定してみたところ、明かに還元力が作用時間と共に増加するのを認めた。従つて本酵素液には纖維素分解作用があるものとみなして、先ず反応最適 pH を試験した。反応液の pH が 3, 4, 4.5, 5, 6 になるように基質液を用意して酵素液を混じ、40°C で2時間作用せしめた後、還元された銅量を測定して作用力を比較した(第5表)。

第5表 供試菌 cellulose 分解酵素の活性と pH
 Activity of cellulose-hydrolyzing enzyme in the mycelium of *Phellinus pomaceus* and pH.

Hydrogen-ion concentration pH					
3	4	4.5	5	6	
■ 0.33	0.35	0.39	0.21	0.16	

^a mg of copper reduced

上表からわかるように、酵素液の cellulose 分解作用は pH が約 4.5 のときに最大である。次に上記2種の基質に対する酵素液の分解作用を見たが、作用液の pH は 4.5 とし、40°C で作用せしめた。

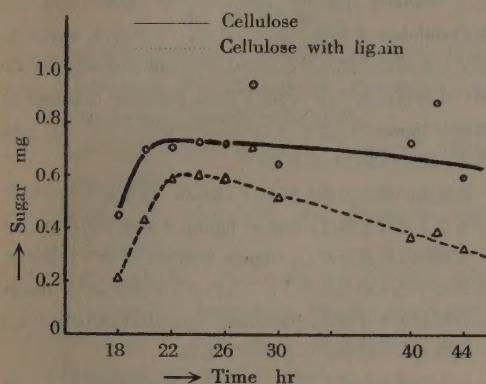
第6表 2種の cellulose 基質に対する供試菌酵素の活性
 Activity of cellulose-hydrolyzing enzyme in the mycelium of *Phellinus pomaceus* to two different cellulose substrates. (Average of two replications.)

Substrate	Times elapsed hr									
	18	20	22	24	26	28	30	40	42	44
Cellulose	b 0.45	0.70	0.71	0.73	0.72	0.95	0.65	0.73	0.88	0.60
Cellulose+lignin	0.21	0.43	0.59	0.60	0.59	0.71	0.52	0.37	0.39	0.33

^b mg of reducing sugar

(1) 供試菌が特に *Prunus* 属の樹木を侵すといわれているため、*Prunus* 属のメジロザクラ、ヤマザクラの木質部組成(12)中の cellulose 及び lignin の比率に従つた。

上表の結果から、供試菌には cellulose 分解作用が認められ、cellulase, cellobiase を共に有するものと思われる。而して酵素液の活性は、24時間以後から漸減するようであるが、cellulose 基質中に lignin が共存する場合には、cellulose 分解作用が弱められるようである(第4図)。



第4図 Cellulose 基質に於ける生成還元糖量と作用時間との関係
Cellulose-hydrolysis by the enzyme in the mycelium of *Phellinus pomaceus*.

5. Lininに対する適応作用 GOTTLIEB(7)によると、木材腐朽菌中白色朽を示すものの中には、lignin を含んだ培養基(lignin のみを炭素源とする)上で予め適応処理を経なくとも直に lignin を利用して発育するものと、予め適応処理を経なければそれを利用発育し得ないものとがある。上記の実験により、供試菌が cellulose 分解能を有する事が認められたので、更に lignin 及 cellulose を炭素源とする場合に、菌によつて如何に利用せられるかを追及した。

CZAPEK 寒天培養基(4)中の炭素源である sucrose を 2% cellulose(蘆紙を磨碎して纖維を解きほごしたもの)、2% 硫酸-lignin 及び cellulose 1.4% と硫酸-lignin 0.6%* とを夫々加えた 3 種の培養基に供試菌の菌糸を移植し、30°Cで培養した。その結果 2% cellulose % 区に於ては発育を認めたが、他の 2 区に於ては全然発育を認めなかつた。従つて筆者は、本菌が適応処理を経なければ、lignin を利用し難いものと判断して、1.4% cellulose と 0.6% lignin とを併せ含む培養基上で次の如く適応処理を行つた。即ち、培養原液** に寒天 2%，及び cellulose 1.4%，硫酸-lignin 0.6% を加え、それに sucrose を 2%，1.0.5，0.1，0.05%，になるように別々に加えた。それ

等に順次 sucrose の濃度が小となるように供試菌を植え換え、1 区につき 30°C で 10 日間づつ培養して、都合 5 種の培養基を通して 50 日間適応せしめた。更に同様に寒天 2% を加えた培養原液に hydrocellulose 0.5%，硫酸-lignin 0.5% + hydrocellulose 1.2% 及硫酸-lignin 0.5% を夫々炭素源として加え、それらに既に適応処理を経た菌糸と、然らざる菌糸とを夫々移植した。夫等は 30°C で 10 日間培養して菌叢直径を測定比較したが、結果は第 7 表の通りである。

第7表 適応処理を経た供試菌菌糸の発育
The mycelial growth on lignin-cellulose media
of the causal fungus adapted to them.

Treatment	^a Cellulose 0.5%	Lignin 0.5%	Cellulose 1.2% + lignin 0.5%
Adapted	^b 41.8	42.8	41.8
Not adapted	64.6	0	0

^a Added in the basal medium respectively.

^b Diameter of mycelial mat mm

以上の結果から明かな如く、適応処理を経た供試菌は lignin 含有培養基上でもよく発育するが、適応処理を得ていないものは発育しない。而して適応処理を経た菌糸の 3 種の培養基上での発育には有意の差を全然認めないが、cellulose 培養基上に於ける適応菌糸の発育は非適応菌糸のそれよりも劣り、両者間にはつきりとした有意差を認めた(20)。本実験の結果からも供試菌は lignin 及 cellulose を共に炭素源として利用し得るものである事が確認出来る。

V. 考 察

腐朽菌の培養基に於ける発育及び材質腐朽に対する温度の関係に就いては、LINDGREN(13), GÄUMANN(6)等が論じているが、筆者の実験範囲内に於ては、菌糸の発育適温帯と材質腐朽適温帯とはよく一致し、前者に於ては 26-30°C、後者に於ては、梅に対して 26°-32°C、桃に於ては 26°-30°C である。従つてこれ等の結果を総合すれば、本菌の発育適温は 26°-30°C であると結論することができよう。而して材質腐朽試験に於ての結果では本菌は桃、梅材共に腐朽せしめるが、材の切断方向では木口(transversal)方向のものが板目(longitudinal-tangential)方向のものよりも腐朽が甚しい。このことは木口方向では導管に菌糸が侵入し易いことによると解せられるが、赤井・獅山等(1)もその実験に於て認めている。

* この比率は前述した *Prunus* 属 2 種の材質の組成から求めた。

** NH₄NO₃ 0.5%，L-(+)-asparagine 0.1%，KH₂PO₄ 0.15%，MgSO₄·7H₂O 0.05%，vitamin B (エビオス代用) 0.005%，H₂O 1000 ml

Phenolase (phenoloxidase) は多数の植物に分布して, Cu を活性簇とし, phenol を基質, O₂ を H₂ の受容体とする酵素である。この酵素は monophenolase (tyrosinase), polyphenolase に区別されるが、更に後者は o-polyphenolase, p-polyphenolase 及び laccase 等に区別されている。KEILIN 及び MANN(12) は *Agaricus campestris* から o-polyphenolase を分離して laccase との間に著しい差を認めている。Monophenolase は一般に種々の monophenol 及び polyphenol を酸化するが、polyphenolase は主に polyphenol を限つて酸化する。而して monophenolase は tyrosine に、又 polyphenolase は monophenol である guajacol に対して特異に反応する事から、簡単に両者を区別することができる。併し monophenolase といつても決して単一のものではないようであつて、実際上これ等を明確に区別する事は困難なようである(11)。

筆者の phenolase 反応実験結果中反応陽性を示したものは、gallic acid, guajacol, phloroglucinol, pyrogallol, resorcinol, tannic acid 及び tyrosin であつたが、この中 guajacol, tyrosin が共に陽性である点からみると、供試菌は polyphenolase 及び monophenolase を共に分泌するものであろう。尚 p-phenylenediamin に対する作用の有無及 CO による阻害の有無によつて、o-polyphenolase が確められるが(12)、実験の都合上逐行出来なかつた事は遺憾である。これ等に關しては将来更に詳しく研究し度いと思つてゐる。hydroquinone が極めて強い発育阻害を示したが、それは本試薬のもつ強い還元性のため、菌の生理機構が破壊されたものであろう。従つて培養法では、本菌のもつ phenolase が hydroquinone に作用するものか否かは明にし得ない。これに反し phloroglucinol, gallic acid 及び tannic acid 等は発育阻害が比較的軽い。この場合 tannic acid は tannase によつて gallic acid に加水分解せられ、更に同時に生じた di-gallic acid が再び tannase により加水分解されて gallic acid を生ずるという(8)。

NORD(16)によれば、木材中の cellulose 部分を分解する木材腐朽菌は、cellulose → cellobiose → glucose → oxalic acid なる代謝を営むが、島蘭(18)は更に oxalic acid は白色朽型菌によつて分解される事を指摘している。筆者は供試菌について、かかる代謝の過程を追及していないが、恐らく NORD の一般式に従うものであろうと想像せられる。筆者は cellulose 分解に関する酵素液として、菌糸の水浸出液を用いたが、これは極めて crude のものであるから、その結果も亦極めて正確を期することは出来ない。而して筆者は cellulase 分解力を測定するのに、分解物産物である cellobiose 及び

glucose 等の還元力の増加を以てしたが、若し酵素液中に生産された還元糖類を更に分解せしめる酵素が含まれているとしたならば、結果は単に見掛けの値を示すに過ぎない。従つてこのような場合寧ろ基質である cellulose 残重量測定によつて分解力を求むべきであつたと思う。而して cellulose 基質中に lignin が共存する場合には供試菌の cellulose 分解能が弱められた。この事は、lignin に適応した菌糸が然らざるものよりも cellulose 培養基上に於いて発育が遅くなつた事と共に、供試菌の cellulose 分解能が lignin の共存によつて抑制せられたものと思われるが、詳しい事はわからない。

供試菌が適応処理を経れば lignin 培養基上でも発育するようになる事は、本菌が lignin に接触する事によつて生理的に性質を変じ、lignin 分解能が質的にも量的にも増加するものであろう。このように供試菌が lignin を分解利用する事は、phenolase 反応 (BAVENDAMM 反応) が陽性であつた事からも明瞭である。

以上の事から考えると、本菌は元来 cellulose をよく分解する性質を持つてゐるが、材質へ侵入の初期は pentosan, hexosan 等の糖類化合物と共に cellulose もまず分解利用するであろう。しかし cellulose 分解力は lignin が材質中に存在するために逐次低下する。之と同時に lignin に対しては菌が適応して漸時 lignin 分解能を高め、材質を完全に腐朽せしめた後に於ては白色朽、即ち lignin 溶解の様相を呈するのではないかであろうか。

VI. 摘 要

本報告に於ては、桃樹の材質を腐朽せしめて、著しい被害を与えるサクラサルノコシカケ *Phellinus pomaceus* (PERS.) QUÉL. の 2, 3 性質について実験を行つた。

1. 本菌は桃心材の白色朽を基にし、菌糸の発育適温は 26°~30°C である。

2. 本菌を桿及び桃材片に接種した結果では、26°~30°C 下に於て腐朽が最も激しく、菌糸発育適温帯と略々一致した。又桿材は桃材よりも腐朽し易く、木口 (transversal) 方向の材片は板目 (longitudinal-tangential) 方向の材片よりも、両材種共著しい腐朽を示した。

3. 本菌の BAVENDAMM 反応は陽性である。基質とした phenol 類中 guajacol, gallic acid, phloroglucinol, pyrogallol, resorcinol, tannic acid 及び tyrosin は呈色反応を示した。

4. 本菌菌体を磨碎して水で浸出した粗酵素液は、作用液の pH 4.5, 40°C の温度で hydrocellulose を最もよく分解した。而して cellulose 基質中に lignin を含むものは、然らざるものよりも、この作用が弱い。

5. 本菌は lignin 培養基上では、予め適応処理を経なければ発育しない。しかし cellulose 培養基上ではかかる処理を要しない。又 lignin に対して適応処理を経た菌糸は、未処理の菌糸よりも cellulose 培養基上での発育はやや劣る。

引用文献

- 赤井重恭・獅山慈孝：木材研究 8: 28-43, 1952.
- BAVENDAMM, W.: Zeitsch. f. Pflanzenkh. u. Pflanzenschtz. 38: 257-276, 1928.
- CAMPBELL, W.G.: Biochem. Journ. 26: 1829-1838, 1938.
- FISCHER, E.: Brit. Myc. Soc. Trans. 19: 102-113, 1934.
- GARREN, K. H.: Phytopath. 28: 839-845, 1938.
- GÄUMANN, E.: Angewandte Bot. 21: 51-69, 1939.
- GOTTLIEB, S., DAY, W.C. & PELOZEA, M.J.: Phytopath. 40: 926-935, 1950.
- JACKSON, W.F.: Chemical Activities of Fungi. 551, 1949.
- 逸見武雄・赤井重恭：木材腐朽菌学, 176-183, 364-367, 1949.
- 北海道大学理学部植物生理学教室：植物生理学実習, 185-186, 1951.
- 神前武和：酵素学, 528-537, 1950.
- KEILIN, D. & MANN, T.: Proc. Roy. Soc. (B). 125: 187, 1938.
- LINDGREN, R.M.: Phytopath. 23: 78-81, 1933.
- LLOYD, C.G.: Mycological Notes. 63: 1920.
- 西田屹二：木材化学工業（上）, 108, 1947.
- NORD, F.F.: Advances in Enzymology 8: 254-296, 1948.
- REA, C.: British Basidiomycetae. 594, 1922.
- 島闘平雄：日本農芸化学会誌 24: 7, 1951.
- 龍本清透：微生物学及植物病理学実験法, 48-58, 1952.
- 寺田一彦：推測統計法, 71-78, 1951.
- 安田篤：植物学雑誌, 37: 202, 1923.

Résumé

In the present paper, the writer dealt with the result of experiments on some physiological characters of *Phellinus pomaceus* (PERS.) QUÉL. which attacked peach wood and caused the white rot of heart wood. It has given serious damages on peach trees causing a breaking down of twigs and splitting of crotch.

1. The optimal temperature for the mycelial growth of the present fungus seems to lie at 26°-30°C.

2. According to the inoculation experiments of the present fungus on small wood blocks of beech and peach, the maximum decay was obtained under 26°-30°C. This was quite agreeable to the range of the optimum growth temperature.

3. By the BAVENDAMM's culture method, using phenol-compounds in agar media, the phenol-oxidase reaction of this fungus was positive. Substrates, such as guajacol, gallic acid, phloroglucinol, pyrogallol, resorcinol, tannic acid, and tyrosine reacted positively showing brown to reddish color in agar media.

4. The crude enzyme solution which was extracted from grounded mycelial mats in water, represented the maximum cellulose-hydrolysis activity under 40°C and at pH 4.5. In this case, however, the activity diminished, when both lignin and cellulose were used as a substrat.

5. The present fungus did not grow on nutrient agar in which only lignin was used as a carbon source. However, if the fungus was permitted to adapt to lignin culturing on lignin and sucrose added media, it grew vigorously. The adapted strain of the present fungus to lignin, grew less vigorously on cellulose-media than the not adapted one.

